UNIVERSITÉ DE STRASBOURG - FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1937-1938 N° 185

INFLUENCE DU COMPLÉMENT SUR L'HÉMOLYSE SPÉCIFIQUE DES SÉRUMS PATHOLOGIQUES (BLENNORRHAGIE, TUBERCULOSE) DANS LA RÉACTION DE DÉVIATION DU COMPLÉMENT (RÉACTION DE HECHT-BAUER)

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le février 1938 à la

FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ (MENTION PHARMACIE)

par

ALFRED LUTT

PHARMACIEN

Examinateurs de la Thèse:

MM. A. SARTORY, Professeur, Président
P. CORDIER, Chargé de Cours, Juge
R. SARTORY, Chargé de Cours, Juge

IMPRIMERIE « ALSATIA » COLMAR — 1938

INFLUENCE DU COMPLÉMENT SUR L'HÉMOLYSE SPÉCIFIQUE DES SÉRUMS PATHOLOGIQUES (BLENNORRHAGIE, TUBERCULOSE) DANS LA RÉACTION DE DÉVIATION DU COMPLÉMENT (RÉACTION DE HECHT-BAUER)

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548006_0074

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG - FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1937-1938 N° 185

INFLUENCE DU COMPLÉMENT SUR L'HÉMOLYSE SPÉCIFIQUE DES SÉRUMS PATHOLOGIQUES (BLENNORRHAGIE, TUBERCULOSE) DANS LA RÉACTION DE DÉVIATION DU COMPLÉMENT (RÉACTION DE HECHT-BAUER)

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le février 1938 à la

FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ (MENTION PHARMACIE)

par

ALFRED LUTT

PHARMACIEN

Examinateurs de la Thèse:

MM. A. SARTORY, Professeur, Président

P. CORDIER, Chargé de Cours, Juge

R. SARTORY, Chargé de Cours, Juge

IMPRIMERIE « ALSATIA » COLMAR — 1938

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. A. SARTORY, *Doyen*, C. ✻, I. ✪, C. ❁
VOLMAR, *Assesseur* ⚜
CUVIER, *Secrétaire*, I. ✪

DOYEN HONORAIRE

M. JADIN, O. ✻, I. ✪, ❁

PROFESSEURS

MM.	A. SARTORY, C. ✻, I. ✪, C. ❁	Bactériologie
	LAVIALLE, ✻, I. ✪, ❁	Botanique
	VOLMAR, I. ✪	Chimie organique
	GUILLAUME, ✻, ⚷, I. ✪, ❁	Pharmacie galénique
	LAPP, I. ✪	Chimie analytique
	CORDIER, chargé de cours ✪	Pharmacie chimique
	R. SARTORY, chargé de cours ✪ ..	Matière médicale

PROFESSEUR HONORAIRE

M. JADIN, O. ✻, I. ✪, ❁

COURS COMPLÉMENTAIRES

MM.	A. SARTORY	Hygiène
	LAVIALLE	Hydrologie
	VOLMAR	Chimie minérale
	GUILLAUME	Zoologie
	LAPP	Physique
	EISENMANN	Législation et Déontologie
	CORDIER	Chimie biologique
	R. SARTORY	Cryptogamie
	DUQUENOIS	Toxicologie

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM.	R. SARTORY	Bactériologie et Parasitologie
	COLLARD, I. ✪, ⚷	Chimie pharmaceutique
	BOHN, A. ✪	Histoire naturelle
	DUQUENOIS	Chimie et Physique

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

A MON PÈRE

MON PREMIER MAITRE

MON PREMIER EXEMPLE

A MA MÈRE

EN TÉMOIGNAGE DE PROFONDE AFFECTION

A MA SŒUR

A MA FIANCÉE

A Monsieur le Professeur A. SARTORY

Doyen de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

Membre correspondant de l'Académie de Médecine

Commandeur de la Légion d'Honneur

en témoignage
de ma profonde reconnaissance et de
mon respectueux attachement.

A MES JUGES :

Monsieur P. CORDIER
Chargé de Cours
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

Monsieur R. SARTORY
Chargé de Cours
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

Hommage reconnaissant.

INTRODUCTION

Lorsqu'en 1901 Bordet et Gengou découvrirent la réaction de déviation du Complément pour le diagnostic des maladies infectieuses et microbiennes, un monde nouveau s'ouvrit à la médecine. On croyait avoir trouvé une méthode infaillible et absolue, spécifique surtout, d'un diagnostic relativement rapide : le sérodiagnostic. Depuis lors des travaux innombrables ont été entrepris et la méthode a subi une série de variantes et de perfectionnements, au sujet desquels nous aurons à parler plus longuement, sans cependant mener d'une façon absolument satisfaisante, à cet espoir qu'on avait formulé au début. Les nombreuses méthodes, dérivées toutes de la première réaction de Bordet et Gengou, ne sont-elles pas un peu la preuve d'une lacune, d'un point non encore éclairé, que nous pose le sérodiagnostic ainsi envisagé? N'a-t-on pas un peu compliqué la question et cherché à résoudre la difficulté en portant ses regards là où ne réside sans doute pas le point final? C'est ainsi que la préparation des Antigènes spécifiques ou non spécifiques, que la question de l'ambocepteur artificiel anti-mouton, retenait et retiennent encore aujourd'hui l'attention de la plupart des auteurs ; que la lecture finale de l'hémolyse positive ou négative a engendré une série de méthodes physico-chimiques, aussi différentes que compliquées et qui devaient toutes nous apporter plus de clarté dans la réaction de déviation du Complément. Il n'y a que ce dernier qu'on semblait un peu négliger, du moins sous la forme de Complément humain frais, dans le sérum à examiner. En effet la plupart des méthodes utilisaient le sérum inactivé, donc privé de Complément humain et faisaient intervenir le Complément de cobaye frais. Restait la méthode de

Hecht-Bauer au sérum frais dont les résultats ne semblaient pas très fidèles non plus. Une série de travaux a été entrepris dans les Laboratoires de Bactérologie de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg, depuis quelques années, en vue de trouver une nouvelle voie à ce sujet. Personnellement nous avons essayé d'y contribuer de notre mieux et d'apporter une modeste part dans cette entreprise.

Avant d'aborder l'exposé de ce travail, nous prions Monsieur le Professeur A. Sartory, Doyen de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg, qui nous a prodigué ses conseils et ses leçons, de trouver ici toute notre gratitude pour la confiance qu'il nous a témoignée en nous donnant ce travail, et de croire à l'expression de notre respectueux attachement pour les preuves souvent renouvelées de sa bienveillance.

Nous adressons le témoignage de notre reconnaissance à Monsieur P. Cordier, Chargé de Cours, ainsi qu'à Monsieur R. Sartory, Chargé de Cours, qui ont bien voulu faire partie du Jury de notre thèse.

Nous devons des remerciements très particuliers à Monsieur J. Meyer, Assistant à la Faculté de Pharmacie qui à tout moment a mis son savoir et sa compétence à notre disposition et a bien voulu nous soutenir, dans les difficultés, en nous aidant à en venir à bout.

Nous tenons enfin à remercier tous ceux qui, modestemment souvent, mais non moins volontiers, ont contribué à trouver le matériel nécessaire à nos travaux et nous ont ainsi considérablement facilité la tâche.

PLAN

Le plan adopté pour l'exposé de notre sujet est le suivant :

Chapitre premier: Réaction de fixation du Complément.

Dans ce chapitre nous donnerons un aperçu de réaction de fixation du Complément, de son historique et des modifications qu'elle a subies en montrant en particulier quels sont les points sur lesquels les différents auteurs ont cru devoir porter leurs efforts pour en augmenter la spécificité.

Chapitre deuxième: Réaction de Hecht-Bauer.

Dans ce chapitre nous envisageons la méthode de Hecht-Bauer au sérum frais particulièrement indiquée comme base de nos expériences.

Chapitre troisième: Le Complément.

Ce chapitre est consacré à l'exposé de la question du Complément, de ses propriétés et de ses rapports avec les autres constituants du sérum, en particulier de son action dans la réaction de déviation.

Chapitre quatrième: Travaux personnels.

Dans ce chapitre nous exposerons nos travaux personnels. Nous serons amenés à insister sur certains détails de manipulation concernant le prélèvement du sang humain et sa conservation dans le vide à la glacière pendant un certain temps.

Chapitre cinquième: Conclusions.

Ce chapitre termine notre travail. Nous exposerons les conclusions générales que nous croyons pouvoir formuler à la suite de nos expériences, sans avoir la prétention d'épuiser une si vaste question, mais dans l'espoir de présenter ce problème sous un aspect nouveau.

CHAPITRE PREMIER

RÉACTION DE FIXATION DE COMPLÉMENT

Avant d'exposer l'historique de la réaction, nous croyons utile de donner un aperçu du principe de la réaction de BORDET-GENGOU-WASSERMANN, en nous appuyant sur le schéma d'EHRLICH, qui en facilite la compréhension.

Lorsqu'on introduit dans un organisme animal vivant un corps étranger (bacille, toxine, albumine étrangère) — appelons-le Antigène — cet organisme réagit en produisant dans le sérum sanguin des substances de propriétés variées : les Anticorps ou Sensibilisatrices. En outre nous trouvons dans tout sérum, sain ou malade, une autre substance ou propriété appelée Complément. Lorsque la Sensibilisatrice a une propriété agglutinante ou précipitante, elle s'attaque *in vivo* et *in vitro* directement à l'Antigène en l'agglutinant, respectivement en le précipitant, donc en l'empêchant de poursuivre son action. Dans le cas où la Sensibilisatrice est lysante ou opsonique, l'intervention du Complément est nécessaire et l'action destructrice de la Sensibilisatrice n'a pas lieu sans lui. C'est là le phénomène de la *Bactériolyse.*

Disons maintenant un mot du phénomène parallèle de l'*Hémolyse.* Des globules rouges (Antigène) d'un animal A introduits dans l'organisme d'un animal B produisent chez ce dernier une Sensibilisatrice antiglobules A. Par la suite tout globule rouge A sera hémolysé — *in vivo* et *in vitro* — par le sérum sanguin de l'animal B. Comme précédemment cette action nécessite l'intervention du facteur Complément que nous trouvons, comme nous l'avons déjà dit, dans tout sérum animal.

L'analogie de la Bactériolyse et de l'Hémolyse est donc frappante. C'est sur elle que repose la réaction de déviation du

Schéma N° I

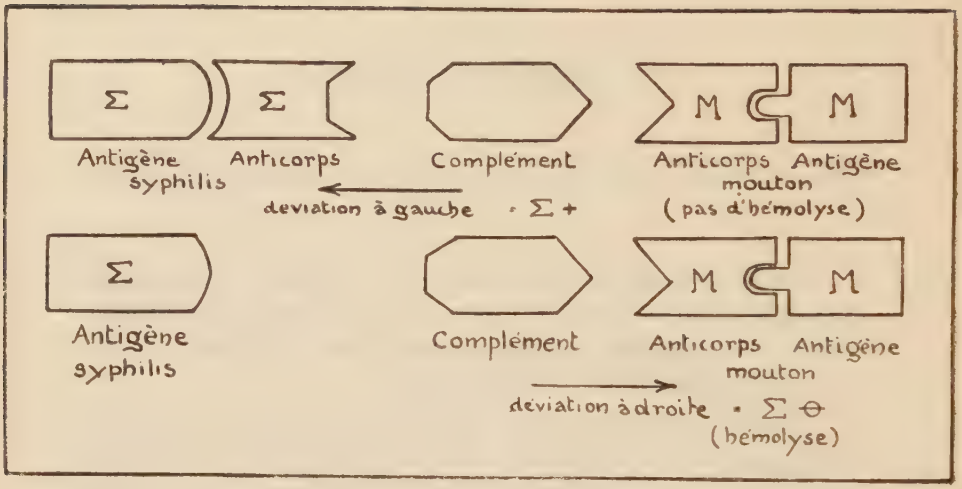
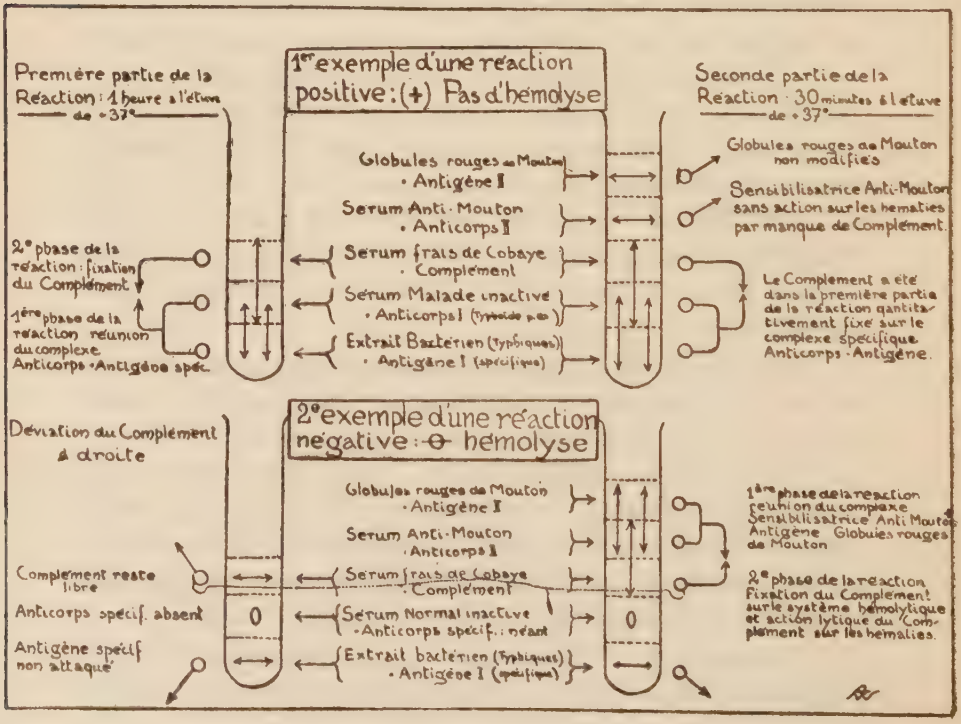


Schéma N° II



Complément, que l'on divise, en théorie et en pratique, en deux temps :

Dans un premier temps il faut mettre en présence:

1. *Sérum à examiner* inactivé par chauffage à + 56° pendant une demi-heure.
2. *Antigène*
3. *Complément* (sérum frais de cobaye)

Dans un deuxième temps, un système hémolytique composé de :

4. *Sérum hémolytique* (sérum de lapin traité par des globules rouges de mouton et inactivé)
5. *Globules rouges de mouton.*

Cas d'un sérum de malade renfermant donc une ou des Sensibilisatrices. — Dans notre réaction — *in vitro* — nous mettons en présence le sérum de malade chauffé (le Complément thermolabile à + 56° étant détruit), l'Antigène spécifique et du Complément frais de sérum de cobaye. Nous avons vu plus haut que ces facteurs vont réagir l'un sur l'autre en formant un bloc dont le résultat final sera une lyse. Si maintenant dans un deuxième temps nous ajoutons dans notre tube une émulsion de globules de mouton et une Sensibilisatrice artificielle anti-mouton (Ambocepteur) nous n'aurons aucune hémolyse : tout le Complément ayant été absorbé par le bloc Antigène-Sensibilisatrice, l'hémolyse ne peut avoir lieu. Le Complément a été *dévié* à gauche, du côté de l'Antigène spécifique, la réaction est dite positive. Le sérum de malade renferme la Sensibilisatrice spécifique de l'Antigène spécifique.

Cas d'un sérum d'organisme sain. — Ce sérum ne renferme donc pas de Sensibilisatrice spécifique. Le bloc Antigène-Sensibilisatrice ne se forme pas, le Complément reste libre et se porte sur le deuxième bloc globules rouges-ambocepteur. Il est *dévié* à droite, l'hémolyse a lieu et la réaction est dite négative. Le sérum de malade ne renferme donc pas de Sensibilisatrice spécifique de l'Antigène spécifique.

Trois facteurs principaux (réactifs) entrent donc en jeu dans la réaction de déviation du Complément de BORDET-WASSERMANN :

l'Antigène, l'Anticorps et le Complément. Un grand nombre de désignations ont été données à ces mêmes facteurs. Pour être plus complet, nous les reproduisons ici :

Antigène	*Anticorps*	*Complément*
Extraits organiques	Sensibilisatrice (BORDET)	Alexine (BUCHNER)
Antigène précipitinogène	Ambocepteur (EHRLICH)	Cytase (METCHNIKOFF)
	Philolytase (METCHNIKOFF)	Substance bactéricide (BORDET)
	Réagine	
	Sérum hémolytique	
	Hémolysine	

Propriétés de ces réactifs.

L'Antigène est une substance étrangère qui crée *in vivo* un état d'immunité et occasionne la formation d'Anticorps spécifiques contre cet Antigène et précipitables sous son influence *in vitro*. Bactéries, toxines, albumines étrangères, globules rouges d'une espèce animale différente sont antigènes pour l'organisme vivant.

L'Anticorps ou Sensibilisatrice (sérum de malade) est le produit d'immunisation strictement spécifique pour l'Antigène injecté et engendré par l'organisme éprouvé. Il est thermostabile, c'est-à-dire résistant au chauffage à + 56° pendant une demi-heure. Soumis à plusieurs Antigènes, un même organisme produira autant de Sensibilisatrices.

Le Complément est une substance ou une propriété que possède tout sérum animal, sain ou malade. Sans entrer dans les détails, puisque nous lui consacrons un chapitre spécial, signalons simplement qu'il est thermolabile, c'est-à-dire détruit par un chauffage à + 56° pendant une demi-heure. Cette propriété est mise en valeur dans toutes les réactions de déviation du Complément au sérum chauffé, où le Complément humain est remplacé par le sérum de cobaye frais et préalablement titré.

Un mot sur les facteurs secondaires.

L'émulsion de globules de mouton est une suspension de globules rouges de mouton à 5% dans du sérum physiologique NaCl 8,5 $^{0}/_{00}$. Ces globules proviennent d'un sang défibriné par agitation en présence de perles en verre, filtré sur de la gaze et lavé à trois reprises au sérum physiologique, après centrifugation et décantation. On peut les conserver plusieurs jours à la glacière.

L'Ambocepteur artificiel ou Sensibilisatrice anti-mouton est retiré du sang de lapin préparé à l'aide de globules de mouton. Le sang prélevé stérilement est mis à coaguler, le sérum recueilli, inactivé une demi-heure à + 56° pour détruire le Complément, puis titré.

A l'exception de l'antigène, tous les autres facteurs de la réaction de BORDET-GENGOU, quoique chimiquement mal connus, interviennent d'une façon quantitative. Il faudra donc avant chaque réaction titrer, ou en pratique vérifier le titre de tous les réactifs.

Envisageons d'abord l'Antigène employé comme réactif *in vitro*. BORDET et GENGOU ont formulé les principales lois auxquelles un Antigène doit obéir : il doit être

1. *spécifique* et n'avoir pas d'action anticomplémentaire, c'est-à-dire qu'il ne doit pas par lui-même entraver l'hémolyse ;
2. *sensible*, il doit fixer à dose très faible le Complément sur l'Anticorps ;
3. *stable* et d'une longue conservation sans que ses qualités ne se modifient.

Il ne paraît donc pas y avoir de relations pondérales entre l'Antigène et le Complément, de sorte qu'on est conduit à le considérer comme un catalyseur dans la réaction de fixation du Complément sur la Sensibilisatrice.

Préparation de l'Antigène : chez un grand nombre de bactéries on peut extraire les substances agglutinogènes et précipitinogènes directement du corps bactérien par simple extraction au moyen de solvants indifférents : eau, solution physiologique.

Les recherches de MESROBEANU ont démontré qu'il est possi-

ble d'isoler de certaines cultures de bactéries un produit soluble à l'eau et au sérum physiologique : « l'Antigène complet ». Obtenu au moyen d'extraction aqueuse, il se présente sous forme d'une substance solide, jaunâtre, d'aspect écailleux, insoluble dans les solvants organiques (alcool, éther, chloroforme, benzène). C'est ainsi que le Bacille typhique, les paratyphiques, les Bactéries de la Dysenterie, du Vibrion cholérique, du Bacille de la peste et en général presque toutes les bactéries pathogènes à l'exception des bacilles acido-alcoolo résistants, libèrent un Antigène hydrosoluble. Tout récemment KREYENBUHL, en travaillant dans le laboratoire de Monsieur le Professeur A. SARTORY, a même pu isoler au moyen d'une technique de macération spéciale, des éléments hydrosolubles du Bacille de KOCH et du Grasbacillus, qui répondent aussi aux qualités d'un Antigène complet. D'après MESROBEANU et KREYENBUHL, cet Antigène complet n'est pas une protéine pure, mais constitué par une liaison d'un polysaccharide, d'un lipide et de substances protéidiques fortement dégradées.

Cette question de la préparation des Antigènes complets et spécifique à partir des Bactéries nous conduit nécessairement à parler de l'historique de la Réaction de BORDET-WASSERMANN, puisqu'elle est à la base de la réaction et constituait la première difficulté à surmonter.

HISTORIQUE
DE LA RÉACTION DE BORDET-WASSERMANN.

En 1889 CHARRIN et ROGER découvrirent que les humeurs des animaux immunisés exercent une action antagoniste vis-à-vis des bactéries homologues, action que ne possède nullement le sérum d'animaux normaux.

En 1898 BELFANTI et CARBONE montrèrent que le sérum des chevaux soumis à des injections de sang de lapin est doué de propriétés fortement toxiques pour ce dernier animal : il pos-

sède des propriétés hémolytiques pour les globules rouges de lapin ; autrement dit son sérum renferme une hémolysine anti-mouton. Mais l'étape la plus importante dans l'étude de l'immunité a été franchie en 1901 à la suite des recherches effectuées par Bordet et Gengou à l'Institut Pasteur de Paris. Ils établirent que dans le sérum d'un sujet traité par un Antigène (microbe, toxine, albumine) se développe un Antigène spécial qu'ils dénommèrent Sensibilisatrice. Celle-ci est capable par un phénomène d'adsorption ou de fixation, d'accaparer l'Alexine ou Complément existant dans tout sérum normal ou vacciné. Cette union intime de la Sensibilisatrice (qui résiste à la température de +56°) et de l'Alexine (qui est détruite par chauffage à +56°) exerce une action sur l'Antigène. Par ex. un mélange *in vitro* de vibrions cholériques (Antigène) et de sérum cholérique chauffé à +56° (Sensibilisatrice sans Alexine) est mis à l'étuve à +37° pendant 1 heure. On introduit alors du sérum frais de cobaye (Alexine) : il y a bactériolyse des vibrions (phénomène de Pfeiffer). Pour rendre visible le phénomène, Bordet et Gengou eurent l'idée d'ajouter à ce moment de l'expérience un groupe hémolytique globules de mouton-ambocepteur artificiel anti-mouton. Suivant que le sérum est celui d'un cholérique ou non, les globules de mouton resteront intacts ou seront hémolysés.

Dès leurs premières expériences les deux savants démontrèrent la présence de la Sensibilisatrice dans le sérum des animaux vaccinés contre le rouget du porc, du choléra, de la peste. Peu après, Widal et Le Sourd se servirent de la méthode pour diagnostiquer la fièvre typhoïde, et Dopter, la dysenterie bacillaire.

La même année, Widal et Le Sourd appliquant ces recherches, ont mis les premiers en évidence la présence d'une Sensibilisatrice spécifique dans le sérum des tuberculeux. Ils s'étaient servi comme Antigène de bacilles tuberculeux homogènes d'Arloing et Courmont, bien débarrassés du bouillon glycériné, et ils avaient utilisé comme globules des globules sensibilisés d'oie et de poule.

Dès lors les travaux de Bordet et Gengou, de Wassermann et Bruck, de Citon, de Calmette et Massol ne font que confirmer cette présence de la Sensibilisatrice tuberculeuse dans le sérum des organismes inoculés au moyen de bacilles tuberculeux.

Wassermann, Bruck et Neisser reprirent la méthode et voulurent l'appliquer à la syphilis. En l'absence de culture de tréponèmes, ils employèrent comme Antigène un extrait aqueux de foie hérédo-syphilitique riche en treponema pallidum. Les prévisions parurent réalisées et la réaction donner un résultat très satisfaisant au point de vue spécificité. Mais bien vite la théorie fut reconnue en défaut. Les recherches ultérieures montrèrent qu'il ne s'agit en aucune façon d'une fixation du Complément, car le foie d'hérédo-syphilitique n'agit nullement à la manière d'un Antigène. On peut, en effet, le remplacer sans inconvénient par du foie d'homme sain, du muscle cardiaque, des organes divers d'animaux, voire même par des produits chimiques tels que lécithine, sels biliaires (taurocholate, glycocholate de soude). Les bases sur lesquelles reposait la réaction de Wassermann s'étant écroulées, il fallait en expliquer le mécanisme producteur.

Presqu'en même temps et indépendamment les uns des autres Landsteiner (12 déc. 1907), Wassermann et Porgès (16 déc. 1907), Levaditi et Yamanouchi (21 déc. 1907) conclurent que les globulines du sérum sont très instables chez les syphilitiques et précipitent au contact des substances colloïdales constituant les extraits d'organes.

O Gengou, en 1908, étudiant de près les phénomènes d'adhésion molléculaires, démontre que ceux-ci sont très voisins des phénomènes biologiques mis en œuvre dans la fixation de l'Alexine. « L'hémolyse par l'Alexine a son point de départ dans un phénomène d'adsorption. » Les travaux de Gengou montrent donc que la réaction de Wassermann n'est pas une réaction de Bordet-Gengou.

Porgès, Landsteiner, Levaditi et Yamanouchi constatèrent bientôt que les substances actives des extraits d'organes sont solubles dans l'alcool.

Le principe actif des Antigènes, alcoolo-soluble, est donc constitué par des *lipides ;* ceux-ci ont été plus nettement caractérisés par les travaux de BORDET et son école et par NOGUCHI, qui ont établi que les substances solubles dans l'acétone, l'éther sulfurique ou l'éther de pétrole étaient plus ou moins nuisible à la spécificité de la réaction et que seuls les corps gras alcoolo-solubles constituent l'Antigène par excellence.

La réaction de BORDET-WASSERMANN, « initialement admise comme une application directe de la réaction de BORDET-GENGOU s'avérant aujourd'hui une réaction de fixation de l'Alexine par des complexes floculants », il est évident que les extraits organiques employés aujourd'hui n'ont pas la spécificité incluse dans le terme « Antigène ». Cette idée a été nettement développée en 1911 par SABOURAUD et VERNES *qui regardent la réaction de* WASSERMANN *comme une simple réaction physico-chimique, indépendante du rapport de l'Antigène à son Anticorps spécifique.* Le terme Antigène a été conservé : en pratique la réaction s'effectue comme si nous avions affaire à un Antigène immuno-spécifique, et théoriquement les extraits employés dans le BORDET-WASERMANN sont à considérer comme des facteurs précipitinogènes.

De la réaction de déviation du Complément initialement employée par BORDET et GENGOU dans le cas du vibrion cholérique, et ébranlée par les constatations de WASSERMANN et autres dans le cas de syphilis et de la Tuberculose, on en vint de plus en plus aux réactions dites *de floculation.* Elles répondaient beaucoup mieux que les premières à l'idée de phénomène colloïdal, cette opinion désormais admise.

En 1917 nous voyons apparaître dans la pratique la réaction de MEINIKE, sous trois formes différentes :

M.T.R. MEINIKE Trübungsreaktion = Réaction d'Opocification ;
M.Fl.R. » Flockungsreaktion = » de Floculation ;
M.Kl.R. » Klärungsreaktion = » d'Eclaircissement.

La réaction de SACHS-GEORGI, de SACHS-WITEBSKI ou au citochol, qui est très sensible.

La réaction de KAHN, une des meilleures méthodes de floculation aussi bien pour sa spécificité que pour sa sensibilité.

La réaction de VERNES, qui par l'emploi du photomètre assure l'uniformité des résultats pour tous les laboratoires et essaye ainsi d'éliminer le facteur de l'interprétation individuelle.

Sans nous étendre davantage sur la question de l'historique de la réaction de BORDET-GENGOU-WASSERMANN, et en particulier sans attaquer celle de la préparation des Antigènes, nous pouvons cependant déjà dégager de l'exposé cette idée : le principal effort des auteurs pour améliorer la spécificité de la réaction a porté sur la question de l'Antigène. DEMANCHE nous donne son opinion à ce sujet sous la forme d'une phrase bien claire : « L'Antigène est l'élément fondamental dont dépendent la sensibilité et la spécificité de la réaction. » Il s'agit donc d'en déterminer la nature, la composition et d'en expliquer le fonctionnement dans la réaction *in vivo* et *in vitro*.

Fonction Antigène.

Nous avons déjà parlé plus haut de la propriété antigénique dans l'organisme et dans la réaction *in vitro*. Nous n'y revenons pas.

Au point de vue physico-chimique la plupart des auteurs admettent aujourd'hui :

1. qu'un Antigène doit être, dans sa structure moléculaire, hétérogène par rapport à l'organisme auquel il est injecté ;
2. qu'il doit être de nature colloïdale et de grosseur moléculaire élevée ;
3. qu'il doit être labile *in vivo*, par exemple par un phénomène de dépolymérisation.

En 1911 FORSSMANN constate que des émulsions d'organe de cobaye (foie, cerveau, poumon, surtout reins et capsule surrénale) injectées au lapin possèdent la curieuse propriété de provoquer la formation de plusieurs Anticorps dont un Anticorps hémolytique vis-à-vis des globules rouges de mouton (ces Anticorps sont dits hétérophiles ou Anticorps de FORSSMANN).

Les recherches poursuivies sur l'Antigène de FORSSMANN ont prouvé que cet Antigène ne se rencontrait pas seulement chez le cobaye, mais qu'il existait chez d'autres animaux. Par extraction alcoolique de ces Antigènes hétérophiles on obtient *un composant lipidique* qui réagit *in vitro* (fixation du Complément, etc.) avec l'immunsérum correspondant, donc avec les Anticorps hétérophiles, mais qui *in vivo* n'a plus d'action immunisante.

LANDSTEINER a ensuite démontré qu'en combinant les extraits alcooliques avec certaines albumines étrangères on pouvait restituer la nature antigénique complète des Antigènes hétérophiles, qu'on pouvait donc provoquer *in vivo* la formation d'Anticorps hétérophiles. Il a donné à ces radicaux chimiques lipidiques capables de se combiner aux substances protéiques en leur conférant des caractères antigéniques spécifiques le nom *d'Haptènes* et *d'Immunisation combinée* à cette méthode artificielle.

LANDSTEINER considère donc l'Antigène comme étant formé de deux parties :

L'une, constituée par une protéine, représente le facteur antigénique réel. Elle provoque la formation des Antigènes dans l'organisme.

L'autre, constituée par des lipides solubles dans l'alcool, de nature colloïdale sans doute; elle confère aux protéines antigènes, dans son union avec elles, une spécificité hétérophile particulière.

DEMANCHE, en poursuivant cette étude sur les lipides des Antigènes, arrive à la conclusion que les lipides apparaissent comme de véritables Antigènes, puisque les immunsérums obtenus au moyen d'un complexe lipido-protéique fournissent des Anticorps susceptibles de réagir spécifiquement et exclusivement avec les suspensions colloïdales du lipide qui a servi à la préparation du complexe. *In vivo* ils se montrent inactifs quand ils sont injectés seuls, puisqu'ils sont absorbés par les albumines de l'organisme. Lorsqu'ils sont préalablement unis à une albumine étrangère, celle-ci les protège contre l'action neutralisante des albumines de l'organisme injecté et les rend « disponibles » selon l'expression de DEMANCHE.

AVERY et HEIDELBERGER ont par la suite montré que les polysaccharides sont aussi des Haptènes, donc capables de se combiner à des protéines pour former des Antigènes.

Pour d'autres les lipides ne sont pas doués par eux-mêmes d'un pouvoir antigénique, et la fonction antigénique serait à attribuer uniquement aux substances albuminoïdes. L'activité apparente des lipides tiendrait au support de nature protéique. Ils supposent plutôt que les lipides utilisés comme Antigènes contiennent des Antigènes protéiques d'impureté.

Enfin SACHS, KLOPSTOCK et WEIL ont repris la question des lipides antigéniques en l'appliquant au cas de la syphilis. Par la méthode d'immunisation combinée, ils ont obtenu des Anticorps antilipidiques réagissant avec les extraits alcooliques d'organes employés dans la séroréaction de la syphilis. Ils ont réussi à rendre artificiellement des lapins positifs à la réaction de WASSERMANN en dehors de toute infection tréponémique. E. CESARI a fait les mêmes constatations et en a tiré la conclusion suivante : « Il est tout à fait vraisemblable que l'on pourrait arriver à conférer artificiellement à un homme sain, en le soumettant à une série d'injections des mêmes complexes lipido-albumineux, les caractéristiques, qui au regard des réactions diagnostiques portant sur son sérum, feraient considérer le sujet comme atteint de syphilis. »

Comment envisage-t-on l'action de l'Antigène sur l'Anticorps ? Trois théories ont essayé d'expliquer cette réaction :

1. *Théorie d'*EHRLICH : Antigène et Anticorps se combineraient suivant la loi des proportions définies en manifestant l'un pour l'autre une affinité très énergique. Il se comportent donc l'un envers l'autre comme un acide fort monovalent (HCl) envers un alcali (KOH).
2. *Théorie d'*ARRHÉNIUS *et* MADSEN : Ces auteurs admettent que les proportions d'éléments en présence sont réglées par la loi d'action de masse. On peut assimiler cette

réaction à celle d'un acide et d'une base faibles (ammoniaque et acide borique) et il y aurait un état d'équilibre en présence de quantités appréciables d'acide libre, de base aussi bien que de sel neutre.

3. *Théorie de* BORDET : Pour cet auteur, la réaction Antigène-Anticorps est d'ordre physico-chimique : c'est une *adsorption colloïdale* exigeant l'intervention d'électrolytes; ce qui agglutine ce n'est pas l'Anticorps, c'est le sel.

Le Complément agirait comme un colloïde protecteur : il aurait un pouvoir décoagulant tendant à séparer le complexe Antigène-Anticorps, mais il s'épuise dans cette action dispersive et ne peut plus exercer son pouvoir anti-coagulant lytique lorsqu'on le met en présence d'un nouveau complexe : hématies sensibilisatrices.

Quand la réaction est positive, le Complément épuisé dans la première partie de la réaction n'est plus disponible dans la deuxième : il n'y a pas d'hémolyse.

Quand la réaction est négative, le Complément reste disponible, l'hémolyse se produit.

Fonction Anticorps.

Les Anticorps sont des produits élaborés par l'organisme sous l'influence d'Antigène, ou mieux les facteurs de la transformation physico-chimique révélés dans un sérum ayant subi l'action d'un Antigène.

Le tableau ci-dessous résume les principales réactions sériques et la manière dont elles se manifestent.

Réactions sériques contre les Antigènes :

1. Eléments de défense existant constamment, agissant *uniformément* contre tous les Antigènes ; donc *des Anticorps non spécifiques.*

   1) *Leucines :* propriété générale de défense des leucocytes, désignés pour cette raison par METCHNIKOFF : *Phagocytes.*

2) *Compléments :* action de défense non spécifique d'après la conception actuelle.

2. Eléments de défense, faisant leur apparition seulement à la suite d'introduction d'un Antigène dans le sang, agissant *uniquement* contre cet Antigène, donc :

Anticorps strictement spécifiques.

A) Agissant contre l'Antigène même :

a) *Bactériolysines :* action lytique dissolvante sur les bactéries.

En association avec le Complément

b) *Hémolysines :* action lytique dissolvante sur les hématies.

c) *Cytolysines :* action lytique dissolvante sur les éléments cellulaires exogènes en général.

B) Agissant contre l'Antigène même :

a) *Agglutinines :* action agglutinante sur les bactéries; immobilisation et agglomération des bactéries.

Sans association avec le Complément

b) *Sensibilisines* ou Anticorps Anaphylactiques : choc anaphylactique chez l'animal en état d'hypersensibilité ou anaphylactisé passivement.

C) Agissant sans association avec le Complément contre les produits exogènes des Antigènes, donc contre les produits de sécrétion et d'excrétion, les toxines, les ferments et les extraits des êtres vivants :

a) *Précipitines :* action précipitante sur les produits exogènes bactériens par ex. Floculation d'un bouillon de culture filtré en présence du sérum antibactérien.

b) *Antitoxines :* action neutralisante vis-à-vis des toxines secrétées par ex. par des bactéries.

c) *Antiferments :* ferments d'ABDERHALDEN ou ferments de défense contre les substances étrangères de poids moléculaire élevé.

Ce tableau groupe donc un grand nombre d'Anticorps. EHRLICH défendait cette opinion de la multiplicité des Anticorps, alors que BORDET, NICOLLE et l'Ecole française considèrent actuellement la fonction Anticorps comme des manifestations variées et différentes d'un « Anticorps unique » qui agirait selon l'Antigène et le milieu dans lequel il est placé.

Quoi qu'il en soit il est prouvé aujourd'hui que l'action Antigène se fait en deux temps : un temps de coagulation (Agglutination, Précipitation, Sensibilisation) suivi d'un temps de décoagulation, après intervention du facteur Complément. L'Anticorps est thermostable : il résiste au chauffage à +55°-60° pendant une demi-heure et ne disparaît que par un chauffage prolongé à +70°. Cette propriété est mise à profit dans les méthodes au sérum chauffé, donc privé de Complément humain frais.

Il est d'une bonne conservation : en milieu stérile son activité se manifeste encore après des mois (par opposition au Complément). Quant à sa nature chimique, il est très difficile de se prononcer. Nous nous contenterons de dire que la fonction Anticorps dépend probablement d'un état physique particulier des Colloïdes, lié à la composition complexe des sérums. Cette fonction se laisse déceler par la mesure de la tension superficielle comme le font admettre les travaux de LECOMTE DU NOUY, et par d'autres mesures physiques.

CHAPITRE DEUXIÈME.

RÉACTION DE HECHT - BAUER

Dans le chapitre précédent nous avons énuméré un certain nombre de méthodes, en partie dérivées de la réaction de déviation telle que BORDET et GENGOU l'avaient conçue, en partie nées des idées que les différents auteurs se faisaient du mécanisme profond de la réaction. Ce sont les réactions de WASSERMANN proprement dites, de CALMETTE-MASSOL, de JAKOBSTAHL, les réactions de floculation de MEINICKE, de VERNES, de SACHS, de KAHN. Elles avaient toutes un même but : atteindre le maximum de sensibilité et de spécificité. En général les méthodes au sérum chauffé présentent une spécificité supérieure aux méthodes au sérum frais, par contre elles sont moins sensibles que ces dernières. Certains auteurs leur attribuent même trop de sensibilité, et partant, des résultats considérés à tort comme positifs, alors que l'absence d'hémolyse doit souvent être regardée comme une réaction non spécifique. C'est l'opinion générale de l'école allemande qui pratique de préférence les méthodes au sérum chauffé. Aussi SACHS justifie ce point de vue, parce que l'inactivation des sérums occasionne et la stabilisation de la structure colloïdale des protides sériques et la suppression de la fonction hémolytique variable à taux inconnu du Complément idiogène. Il distingue une réaction Antigène-Anticorps strictement spécifique et une réaction non spécifique due à la labilité des colloïdes

et principalement des globulines. Ces dernières réactions (Labilitätsreaktionen) se produisent plus facilement au moyen des sérums frais, actifs, et il appelle les agents responsables de ces réactions non spécifiques des « Pseudoantigènes ».

L'école française et américaine par contre emploie couramment les méthodes au « sérum actif » et ceci avec raison. Par le chauffage on détruit non seulement le Complément, mais aussi une partie des Sensibilisatrices spécifiques. D'autre part, par ce chauffage les protides sériques subissent une stabilisation, mais par là même, aussi une modification de la structure chimique des molécules protidiques assez prononcée, qui devient déjà manifeste par l'augmentation des Sensibilisatrices anti-mouton. On pourrait supposer, comme le mentionne aussi SACHS, que la présence du Complément dans le sérum frais, introduisant un excès de Complément, exposerait à un plus grand nombre de résultats négatifs : l'Alexine en excès non fixée pouvant agir sur le complexe hémolytique et déterminer une hémolyse totale ou partielle des globules de mouton. Or, l'expérience montre juste le contraire : les sérums actifs donnent plus de résultats positifs que les sérums chauffés.

En 1908 déjà HECHT préconisa une réaction au sérum non chauffé, utilisant le pouvoir hémolytique naturel des sérums frais. On trouve en effet dans tout sérum de malade une Sensibilisatrice (ou non: c'est ce que la réaction doit nous prouver), l'Alexine ou Complément et une Sensibilisatrice anti-mouton naturellement présente dans le sang humain. Il suffira donc en principe d'ajouter un Antigène bien choisi pour nous replacer dans des conditions semblables à celles de la réaction de BORDET-GENGOU au sérum non chauffé.

L'inconvénient essentiel de l'emploi de sérums non chauffés consisterait dans la « labilité » de leurs constituants que le chauffage inhiberait d'une façon efficace. Le pouvoir hémolytique dû à l'Alexine et à la Sensibilisatrice naturelle anti-mouton est en effet variable suivant les sérums et leur conservation. Notre travail s'oriente précisément dans le sens de la conservation de l'Alexine humaine et de son action possible dans la réac-

tion de déviation du Complément. Il était donc tout indiqué de nous servir à cet effet de la réaction de HECHT.

Réactifs : *Antigène*
Sérum de malade
Emulsion de globules de mouton

1) Antigène

Dans le cas d'un Antigène obtenu par extraction alcoolique, il faut laisser l'alcool s'évaporer par un séjour de quelques heures à l'étuve et reprendre le résidu par une solution physiologique de chlorure de sodium. On évite ainsi l'action de l'alcool sur l'Alexine.

Avant de pratiquer toute réaction de déviation, il faut déterminer la dose à laquelle l'Antigène fixe à lui seul la quantité de Complément employée ou présente dans le sérum : *le pouvoir antialexique de l'Antigène.* Cette détermination est impossible dans le cas d'un sérum frais, puisque nous ne pouvons pas séparer l'action « Complément » de l'action « Substances spécifiques ». On admet généralement que le sérum humain est suffisamment riche en Complément pour être capable de vaincre le pouvoir antialexique des Antigènes. HECHT, à ce sujet, a constaté une insuffisance alexique dans 2% à 3% des cas environ. Il semble d'autre part que le vieillissement diminue souvent le pouvoir antialexique.

D'autre part il faudra déterminer *l'index hémolytique de l'Antigène.* Pour une dilution donnée un Antigène doit laisser intact le pouvoir hémolytique naturel du sérum.

Pour rechercher la dilution de l'Antigène laissant intact le pouvoir hémolytique des sérums normaux, on diluera l'Antigène 20, 30, 40 fois et on mettra dans 10 tubes (A) : 0,1 cc de sérum, 0,15 cc des dilutions d'Antigène et ensuite 0,15 cc d'eau physiologique. Pour déterminer *le titre hémolytique des sérums seuls,* on opérera suivant la partie B du tableau I. — Au bout d'une heure de séjour à l'étuve, on ajoutera à tous les tubes des doses croissantes d'hématies de mouton à 5 % — de 0,1 cc à 1 cc — d'après le tableau suivant :

Tableau I

	A : Antigène à 1/20					B :				
Sérum tube n°	1	2	3	4	etc.	1	2	3	4	etc.
Antigène cc	0,15	0,15	0,15	0,15						
Sérum cc	0,1	0,1	0,1	0,1		0,1	0,1	0,1	0,1	
Eau physiol.	0,15	0,15	0,15	0,15		0,3	0,3	0,3	0,3	
Etuve à + 37° pendant 1 heure, puis										
Globules de mouton à 5%	0,1	0,2	0,3	0,4		0,1	0,2	0,3	0,4	
Etuve à + 37° pendant 20 minutes.										

Cette manipulation nous indiquera donc quelles sont les quantités minima d'Antigène et de globules à employer pour les sérums donnés.

2) Sérum de malade

Le sérum de malade provient du sang prélevé aseptiquement, coagulé et conservé à la glacière pendant 12 à 24 heures. Le temps de conservation que nous indiquons ici compte pour la règle générale : nous verrons plus loin qu'au cours de nos expériences nous avons été amenés à appliquer une méthode spéciale de conservation.

Après décantation et centrifugation on aura un sérum clair, privé d'hématies, renfermant :

une ou des Sensibilisatrices spécifiques (ou non)
une Sensibilisatrice anti-mouton
un Complément

3) Emulsion de globules de mouton

Le sang de mouton, prélevé à l'abatage et mélangé à des perles de verre, qui par agitation le privent de la fibrine, est

lavé à 3 reprises avec une solution physiologique de NaCl à 8,5 gr $^{0}/_{00}$. On aura soin de ramener toujours le volume du liquide au volume de sang total initial. Les hématies ainsi lavées se conservent très bien pendant 4 à 6 jours à la glacière.

Au moment du besoin on fera une émulsion de 5 % dans de la solution physiologique. Cette émulsion servira dans la réaction de HECHT.

Technique

Par sérum à examiner il faut deux tubes :

Dans le tube n° 1 on met { 0,2 cc de sérum de malade non chauffé / 0,2 cc de solution d'Antigène

Dans le tube n° 2 on met { 0,2 cc de sérum de malade non chauffé / 0,2 cc de solution physiologique

Les tubes placés sur un support sont agités puis placés à l'étuve à +37° pendant 1 heure. Au bout de ce temps on retire le support de l'étuve et l'on ajoute dans chaque tube : 0,15 cc ou 2 gouttes de l'émulsion de globules de mouton. On agite bien et on replace à l'étuve +37° pendant 10 minutes.

Lectures des résultats :

1) Hémolyse + dans les 2 tubes : résultat négatif.
   On continue à ajouter dans les deux tubes 2 gouttes d'hématies et on replace à l'étuve 10 minutes.
2) Hémolyse + dans les 2 tubes : résultat négatif.
   On ajoute encore dans les deux tubes 2 gouttes d'hématies et on replace à l'étuve.
3) Hémolyse + dans les 2 tubes : résultat négatif.
   Hémolyse + dans le tube témoin et négative dans le tube à examiner : résultat positif.
4) Hémolyse + dans les 2 tubes : résultat négatif.
   Hémolyse + dans le tube témoin, négative dans le tube à examiner : résultat positif.

Cette méthode de 4 lectures successives à 10 minutes d'intervalle permet donc de déterminer le caractère positif ou négatif

de la réaction en annotant des signes + ou — les différentes phases suivant le tableau ci-dessous :

Réaction	positive	forte	: ++++
»	»	»	: +++
»	faible		: +
»	douteuse		: —+
»	négative		: —

Dans le cas où dès la première lecture on aura une absence d'hémolyse dans les deux tubes on aura affaire à un sérum anti-complémentaire-antihémolytique, ce que l'examen préliminaire du tableau I nous aura déjà pu révéler. La réaction de HECHT dans ce cas est impossible.

Nous aurons à revenir sur cette question dans le chapitre IV et donnerons à ce moment quelques détails concernant les Antigènes tuberculeux et blennorrhagique employés au cours de nos manipulations.

Avant d'aborder l'exposé de nos travaux personnels, nous voulons encore insister sur le point capital qui différencie la réaction du sérum frais des réactions au sérum chauffé : *le Complément.*

CHAPITRE TROISIÈME

LE COMPLÉMENT

Dans la terminologie courante le mot de Complément a pris figure d'un substance que les travaux des dernières années ne permettent pas de définir facilement. Bien au contraire. D'une substance unique on a passé à différents composants et de là à une autre conception qui ferait du Complément une fonction ou propriété bien plus qu'une substance. SACHS s'exprime ainsi : « Le terme Complément est aujourd'hui d'autant moins admissible que les différents composants dont résulte la fonction Complément, ne sont sans doute pas des produits bien définis du sérum. L'action Complément représente plutôt une fonction physico-chimique de la constitution d'ensemble du sérum ». Cependant la désignation Complément subsiste, puisqu'on la trouve chez tous les auteurs, sans que pour cela il faille y voir l'existence d'une substance unique ou d'un ensemble de substances. Comme nous l'avons exposé dans notre tableau de classification des Anticorps, il ressort que le Complément est lui aussi à considérer comme un Anticorps.

D'après les faits constatés lors des travaux les plus récents, il faudrait considérer aujourd'hui les diverses réactions d'immunisation comme des manifestations différentes d'un seul et unique Anticorps. Nous voyons par conséquent la grande parenté du Complément avec les autres groupes d'Anticorps, que nous avons distingués, pour faciliter l'exposé, selon les phénomènes réactionnels apparents.

Avant d'aborder l'exposé des caractères propres au Complément, nous voudrions donc tout d'abord énumérer les principaux

caractères qui permettent de distinguer analytiquement le Complément des deux séries d'Anticorps qui l'encadrent dans notre classification : des *Leucines* et *Sensibilisatrices strictement spécifiques*.

Les trois faits principaux qui différencient Complément et Sensibilisatrices spécifiques sont :

1) *L'absence de spécificité du Complément :* constituant labile et normal d'un sérum, son action lytique ne découle que de sa combinaison avec la Sensibilisatrice qui, elle, représente l'Anticorps spécifique.
2) *Sa thermolabilité*, ou plus exactement thermolabilité relative par rapport aux Sensibilisatrices spécifiques, et sa fragilité en général contre les agents physiques.
3) *Sa neutralité* dans le processus d'immunisation, car on ne constate dans l'immunsérum aucune modification, ni quantitative, ni qualitative. Fait important, puisqu'en mélangeant un immunsérum, même à titre cytolytique très élevé, avec une forte quantité de son Antigène cellulaire spécifique, la lyse ne s'effectue pas, étant donné la teneur toujours très faible en Complément de l'animal sensibilisé.

La *Leucine* et le *Complément* se différencient par les caractères suivants :

1) La Leucine est beaucoup plus résistante contre l'effet inhibiteur de la chaleur.
2) L'action de la Leucine est indépendante de la teneur en ions minéraux des milieux, le Complément par contre ne peut agir qu'en concentration définie en sels.
3) L'action globulicide du Complément manque complètement chez les agents de la phagocytose.
4) Le sérum inactivé inhibe presque complètement et définitivement l'effet bactéricide des extraits leucocytaires. Un sérum inactivé peut être réactivé par addition de traces de sérum normal.
5) La constitution chimique des Leucines est beaucoup moins complexe que celle des Anticorps spécifiques et du Complément.

6) L'action bactéricide des extraits leucocytaires n'est pas toujours analogue à celle du sérum provenant du même sang.

Par exemple l'action bactéricide du sérum vis-à-vis d'un Streptocoque est nulle, l'action bactéricide de l'extrait leucocytaire du même sang produit une lyse nette du Streptocoque.

7) La bactéricidie leucocytaire n'est pas augmentée par un traitement d'immunisation; le taux complémentaire n'est pas modifié non plus, mais l'Anticorps spécifique augmente proportionnellement.

Voici donc la place du facteur Complément nettement définie dans le tableau général des Anticorps. Il nous reste maintenant à étudier les propriétés du Complément et à montrer son rôle et son importance dans la réaction de déviation.

Le Complément existe dans le sang, dans la lymphe, les exsudats et les transudats. Sa présence plus ou moins constante a été démontrée dans le lait de femme. Il apparaît dans le liquide qui se reforme dans la première chambre oculaire après extraction préalable de l'humeur aqueuse initiale.

Normalement, le Complément fait défaut dans l'urine, la salive, les larmes et le liquide céphalo-rachidien. Il apparaît au cours des divers processus pathologiques.

Capart a comparé les Compléments d'homme, de lapin, de cobaye et de mouton. Leur activité lytique peut s'exprimer par l'échelle suivante : cobaye 32, homme 4, lapin 1, mouton 1 : le sérum de cobaye a donc la plus grande force alexique, d'où son avantage dans la réaction de Bo-Wa. En plus de cet avantage quantitatif, il faut retenir que le sérum de cobaye se distingue par l'extrême pauvreté ou l'absence en Sensibilisatrice naturelle anti-mouton, alors que le sérum humain en possède toujours une quantité assez importante (voir réaction de Hecht).

La propriété la plus marquante du Complément, à première vue, est certainement sa *fragilité*. L'inactivation du pouvoir alexique par des agents physiques, chimiques et biologiques a de tout temps déterminé les auteurs à éliminer dans la réaction de déviation ce facteur instable.

Par chauffage à + 55° - 60° pendant une demi-heure, le Complément est entièrement détruit. Un chauffage à + 50° - 51° pendant six heures mène au même résultat. L. A. Silber et A. S. Schafran ont cependant constaté que l'addition de substances antidénaturantes (solutions concentrées de saccharose, de glucose, de maltose) augmente la thermorésistance de l'Alexine, qui présente encore une activité après chauffage à + 56° pendant 30 minutes. Les sucres auraient un effet antagoniste à la dénaturation des protéines par la chaleur.

La lumière détruit après quelques heures à peine le Complément, surtout en milieu d'oxygène. Il y a donc toujours intérêt à placer le sérum humain et le sérum de cobaye à l'abri des radiations solaires, en les plaçant à la glacière par exemple.

La destruction du Complément s'obtient par l'agitation, surtout en présence d'oxygène. Le pouvoir alexique diminue rapidement dans certains cas; le plus souvent il ne se modifie pas pendant les premières heures, mais on assiste à une baisse brusque dès que la diminution a commencé. Au cours de nos recherches nous avons pu vérifier ce fait, comme on le lira dans le chapitre suivant. La condition optima de destruction a lieu à la dilution de 1/10, à + 37° et à grand volume, en présence d'oxygène. D'après Jakoby c'est cette condition qui est la plus importante, puisqu'en présence d'hydrogène la résistance du Complément est très grande.

Dissous dans 12 volumes d'eau distillée, le Complément se détruit. Par contre il se conserve dans une solution saturée de NaCl alcaline. La dialyse en milieu d'eau distillée entraîne sa destruction, en solution physiologique ou en présence d'autres sels (KCl, SO^4Na^2, SO^4Mg), il se conserve bien.

Desséché, le Complément supporte une température supérieure à + 56° sans perdre son activité, qu'on retrouve en faisant une dissolution appropriée.

Par congélation et fusion du sérum congelé, le Complément n'est pas détruit, alors que le pouvoir bactéricide du sang disparaît.

Quant au mécanisme profond *in vivo*, Lecomte de Nouy admet que la destruction du Complément est déterminée par la

pénétration de l'eau dans la couche atomique superficielle de la molécule, tandis que la destruction des Sensibilisatrices vraies serait due à un bombardement plus profond à l'intérieur de la molécule.

Plus intéressante sans doute est la conservation du Complément. A. URBAIN a conservé le sérum frais de cobaye par addition de 1/10 de son volume d'eau saturée de NaCl (36 grammes pour 1000) et à la glacière. Au moment de l'emploi il suffit de faire la dissolution dans l'eau distillée pour restituer au sérum sa tonicité normale. Par cette méthode le titre alexique reste intact pendant 10 - 12 jours.

Il est prouvé d'autre part que le Complément se conserve mieux dans un sérum en présence du caillot de sang. Au début de nos expériences nous avons constaté une destruction rapide du pouvoir alexique du sérum de cobaye séparé du caillot de sang et conservé à la glacière sans addition d'un agent conservateur tel que solution saturée de sel. Après 3 jours le sérum présentait plusieurs couches d'aspect et de densité différents et était inactif, alors que le sérum conservé en présence de globules restait parfaitement limpide et conservait son pouvoir alexique.

Nous aurons d'ailleurs à revenir sur cette question de la conservation du Complément en parlant de sa nature chimique et à propos de nos recherches orientées dans ce sens.

Les premiers résultats sur la constitution du Complément ont été obtenus par FERRATA à l'aide d'une technique de dialyse en présence d'eau courante. Il obtint par centrifugation un précipité formé par les globulines du sérum, et un liquide surnageant, clair, ayant en dissolution les albumines. Ni l'une ni l'autre de ces deux fractions, remises en solution isotonique, n'hémolyse isolément les globules rouges sensibilisés. Mais, chose remarquable, il suffit de mélanger ces deux liquides pour voir réapparaître le pouvoir hémolytique. FERRATA avait ainsi démontré que le Complément est formé de *deux constituants*, dont l'un accompagne les globulines, l'autre les albumines.

BRAND a trouvé que la partie du Complément renfermée dans le précipité se fixe assez solidement et d'une façon stable

sur les globules sensibilisés, et que la partie renfermée dans le dialysat ne se fixe que sur les globules persensibilisés, c'est-à-dire ayant déjà fixé la fraction globulines. De là le terme de *Mittelstück* (chaînon central) qu'il donna à la fraction globulines, et de *Endstück* (chaînon terminal) qui désigne le fragment contenu dans le dialysat. Isolés ou réunis, les deux tronçons du Complément deviennent inactifs par chauffage à + 55°. Les ferments protéolytiques les détruisent tous les deux.

Différentes autres techniques ont permis de faire les mêmes constatations. SACHS et ALTMANN divisent le sérum à l'aide d'une solution de HCl n/300 en deux fractions, globulines et albumines, renfermant respectivement le Mittelstück et le Endstück. LIEFMANN fait passer dans une solution de sérum frais un courant de CO^2 qui détermine au bout de 10 minutes la formation d'un trouble. Par centrifugation il retire un dépôt répondant aux propriétés du Mittelstück, et un liquide renfermant le Endstück. Nous avons dit que le pouvoir ne pouvait être reconstitué que par l'union des deux fractions. Cependant SCHUBERT est de l'avis que le chaînon central M a un pouvoir plus fort que le chaînon terminal E. Aussi considère-t-il M comme le véritable porteur du pouvoir complémentaire, et E aurait le rôle de maintenir ou d'amener les globulines à l'état où elles se trouvent dans le sérum du sang de tonicité normale.

Mais la constitution du Complément est encore plus compliquée, car RITZ a pu identifier encore *un troisième composant*. Sous l'influence du venin de cobra, le pouvoir alexique d'un sérum frais est aboli. En ajoutant à ce sérum, inactivé par le venin, une portion d'un autre sérum, mais cette fois inactivé par le chauffage, le pouvoir alexique se manifeste à nouveau.

Ce troisième composant est donc thermostable et n'est pas directement adsorbable par les hématies sensibilisées. RITZ et SACHS ont d'autre part constaté qu'il est destructible par l'addition de suspensions de bactéries, en particulier du *Bacillus Prodigiosus*. On peut démontrer l'existence des trois tronçons de la façon suivante : on divise un sérum frais en deux portions. La première, inactivée par le venin de cobra, est soumise

à la dialyse et on obtient ainsi le chaînon moyen et le chaînon terminal. Aucune de ces deux dernières fractions ainsi isolées, combinée seule au sérum chauffé, ne peut hémolyser des globules rouges sensibilisés. Le mélange des deux fractions inactivées par le venin de cobra au sérum chauffé est indispensable à la reconstitution du facteur alexique.

Le Complément ne paraît donc pas, d'après ces résultats, être l'élément labile et non spécifique dans le sens strict qu'on voulait lui attribuer. Car son troisième composant constitue sans doute un tronçon thermostable absorbé par les bactéries et les levures. Le chaînon central se comporte sûrement comme une Sensibilisatrice vraie, car il est absorbé par les globulines qui lui servent comme un Antigène sensibilisé.

Le processus lytique dû au Complément semble être attribuable au troisième composant, car Coca a pu découvrir une race de cobayes caractérisée par le manque de la fonction alexique du sang. Il a pu démontrer que les chaînons central et terminal du Complément ne manquent pas dans ce sang, tandis que le troisième composant y fait défaut. Un tel sérum, utilisé seul, ne donne pas d'hémolyse, même employé à doses 40 fois plus fortes. Mélangé avec une minime quantité de sérum neuf inactivé d'un cobaye normal, le sérum de ces cobayes hémolyse alors une dose d'hématies triple de celle qu'hémolyserait un sérum de cobaye normal. C'est donc la fraction thermostable qui active le phénomène de la lyse.

Browning et Makie ont même pu isoler *un quatrième composant thermostable* du Complément. Il est plus attaché aux albumines que le troisième et peut être détruit isolément par l'ammoniaque, alors que le troisième résiste à l'alcalinisation.

Dans l'inactivation du Complément par la chaleur, on peut admettre que le Endstück est détruit en premier lieu, puis le Mittelstück, enfin le troisième et le quatrième composants.

En résumé, on peut dire que *le Complément est constitué de quatre fractions*, dont deux sont thermostabiles : l'une : le chaînon central, est fixée aux globulines; l'autre : le chaînon terminal, est liée aux sérines-albumines. Les deux autres tronçons sont thermostables : le troisième composant est globulinophile, le quatrième composant est lié aux sérines-albumines.

On ne sait pas encore très bien comment il faut se représenter l'action combinée des différents composants du Complément. Sa constitution chimique est encore bien obscure. Beaucoup d'auteurs, et surtout l'école de METCHNIKOFF, ont tendance à mettre en parallèle l'action du Complément avec celle des Enzymes, et ceci principalement en considérant les analogies étroites entre l'inactivation du Complément et celle des ferments. Cependant, à part d'autres points de différenciations nettes, il faut surtout retenir que le Complément, au cours des réactions auxquelles il participe, est détruit successivement suivant la loi des proportions constantes; il se comporte donc, lors du processus analytique, comme un corps chimique.

TISSOT a, par des expériences très consciencieuses, étudié ce problème. Il considère l'inactivation comme un processus chimique. La modification de la réaction peut par exemple témoigner l'exactitude de cette conception. Des sérums normaux donnent une réaction acide à la phénolphtaléine et une réaction neutre au tournesol. Après chauffage à + 55° ou après inactivation par agitation à l'éther, la réaction de ces sérums devient alcaline au tournesol. Le sérum inactivé par la chaleur fournit un extrait éthéré beaucoup plus concentré en cholestérol. L'inactivation par la chaleur ou par la dialyse est la suite d'une dissociation des savons dissous dans le sérum. Ceci serait prouvé par le processus favorisant ou inhibant la dissociation des savons au cours de l'activation ou de l'inactivation du Complément, tel que la dialyse, les alcalis, les substances se combinant aux acides gras et aux alcalis. Lors de l'inactivation par la chaleur, il y a fixation de l'acide oléique sur les protides-sériques, suivie d'une dissociation progressive des savons. La dialyse met les alcalis des savons ou les carbonates en liberté dans le dialysat, les savons acides sont retenus et se fixent sur les globulines, qui précipitent. NaCl protège les solutions colloïdales au cours de l'inactivation et empêche la floculation des globulines, car ce sel stabilise les complexes colloïdaux des savons-albumines et du cholestérol-albumines. L'élimination du NaCl détruit la stabilité colloïdale, et le cholestérol extrait par l'éther est par conséquent augmenté. Ces arguments sont approuvés par les expériences de BELFANTI : en effet, on peut extraire du sérum de cobaye, au moyen de solvants

lipoïdiques (alcool, acétone), une substance thermostabile qui contient du phosphore et de la choline (substances fondamentales des lécithines) ; ces produits lipoïdiques, doués d'une réaction alcaline, ont une action hémolytique se rapprochant de celle des Lysocithines. Ce facteur, d'après les travaux de A. MEYER et G. SCHAEFFER, serait lié aux acides gras, lesquels jouent le rôle de phosphatides très peu variables d'un animal à l'autre. D'après BROOKS le pouvoir lytique du Complément pourrait avoir son paradigme dans la lécithine (Diacono) (substance-mère) laquelle, par action de la lipase du venin de cobra, donnerait lieu à une véritable substance lytique, la lysocithine; l'action prolongée du venin rendrait ensuite cette substance inactive, car le deuxième acide gras serait mis en liberté et on arriverait ainsi à la détérioration du Complément.

Cette hypothèse semble donc acceptable, quoiqu'elle n'ait pas encore été expérimentalement démontrée. Elle a cependant trouvé un appui sérieux dans les travaux de NOGUCHI d'un côté, de LIEBERMANN et de son Ecole de l'autre. Ces auteurs ont fabriqué un Complément artificiel constitué par des savons et du sérum inactivé.

La technique la plus récente de préparation de cette Alexine est d'après BORN la suivante :

1) Alcool méthylique ..... 5 cc
   Oléate de soude ..... 0,005 gr
2) Solution alcoolique de $CaCl^2$ .... 1 cc

Le mélange doit être limpide, la solution de savon doit être neutre. La dose de sérum de lapin inactivé et préalablement titré est ensuite mélangée à 2 cc de la solution calcique de savon.

On a donc ainsi pu préparer un Complément à pouvoir hémolytique. Cependant ce composé ne fait pas de différence entre les globules rouges sensibilisés et les globules ordinaires non sensibilisés.

Si nous ne sommes actuellement pas encore à même de préparer un Complément ayant toutes les propriétés du Complément vivant, il ne semble pas douteux que les savons et les lipides constituent des facteurs primordiaux de sa composition.

La question de l'origine du Complément nous échappe encore complètement. Parmi tous les organes, les tissus rouges de la moelle osseuse renferment le plus de matières bactéricides. Mais ces substances bactéricides diffèrent nettement des Alexines et ne présentent pas d'action hémolytique et bactériolytique.

Le foie est sûrement une source de production de Complément, mais sans doute pas la seule. Il semble même que tous les organes soient capables d'en produire et qu'on puisse rattacher le phénomène de la production du Complément au phénomène de la nutrition en général.

*
**

En parlant des Anticorps nous avions signalé leur spécificité, surtout par opposition au Complément qu'en général on considère comme non spécifique. Cependant tous les auteurs ne sont pas de cet avis, et Ehrlich et Morgenroth plaident pour un grand nombre de Compléments également spécifiques, avec cette restriction qu'un Complément peut se fixer à plusieurs Sensibilisatrices différentes. Par différentes méthodes — digestion par la papaïne, action de la soude sur le sérum normal — Ehrlich et Sachs croient prouver la diversité des Compléments par des agrégats de molécules qui se formeraient différemment. Un complexe de deux molécules de globulines et de une molécule d'albumine agira différemment qu'un complexe de trois globulines plus deux albumines par exemple.

En somme, si la considération d'Erlich sur la spécificité du Complément n'a encore rien d'absolu, il faut avouer qu'un certain nombre d'expériences plaident en sa faveur.

En résumé, que faut-il penser de cette question si vague encore de la nature chimique du facteur Complément ? L'opinion la plus couramment admise les dernières années est certainement celle émise par Sachs. Cet auteur considère la fonction Complément comme la conséquence de la structure colloïdale particulière des Albuminoïdes du sérum, dont l'ensemble peut être divisé en fractions et reconstitué par leurs combinaisons. Dans ce sens on peut admettre que la fonction alexique est unie

aux Protéides du sérum, sans prétendre par là que toute l'action soit vraiment conditionnée par l'Albumine du sérum. Il est à admettre que la labilité du Complément repose sur la stabilisation que subissent les Albuminoïdes sous l'effet naturel d'un repos ou d'une intervention artificielle telle que la température. L'inactivation dans ce sens représente donc une stabilisation des Albuminoïdes du sérum et par là la suppression de la faculté de réagir qu'avaient les fractions labiles des Albuminoïdes. Les choses se compliquent encore du fait que la fonction Complément se fractionne en plusieurs parties albuminoïdes, qui prises seules sont inactives, mais réunies forment le Complément.

***

Nous savons que dans un organisme infecté les Anticorps sont en quantité variable, plus ou moins grande, mais parfaitement dosable. Dans le sang d'animaux que l'on utilise d'habitude pour fournir le Complément, on a noté aussi des variations plus ou moins accentuées dans la puissance de cet élément lytique. Le sérum de cobaye mâle par exemple est plus stable que celui des femelles. Des conditions pathologiques occasionnent soit une diminution, soit une augmentation du pouvoir alexique.

Ainsi le pouvoir alexique est diminué dans les états suivants : intoxication par l'oxyde de carbone, empoisonnement par l'alcool, diabète pancréatique, paludisme, fièvre jaune.

Il est augmenté dans : le scorbut, l'abcès de fixation.

Restent sans influence notable sur la teneur et la qualité du Complément : la typhoïde, la dysenterie, la diphtérie.

D'autre part, on a examiné l'influence de diverses substances médicamenteuses, introduites dans l'organisme, sur la valeur du Complément sérique. Comme plus haut, on constate une augmentation du Complément par les uns, pour d'autres une diminution.

***

Le Complément est donc certainement un facteur plus vivant qu'on ne le croyait pendant longtemps.

CHAPITRE QUATRIÈME.

TRAVAUX PERSONNELS

Dans le chapitre précédent nous avons pu nous rendre compte, par des caractères positifs et négatifs, de l'importance du facteur Complément pour les réactions biologiques du sang.

Si donc dans la réaction de BORDET-WASSERMANN, comme le fait très justement remarquer DOURIS, on ne tient compte du Complément présent dans les sérums à examiner que pour le détruire par un chauffage approprié, nous croyons que l'effet de la stabilité protidique ainsi réalisée va sur le compte de la sensibilité et de la spécificité de l'analyse même.

Car il faut considérer le sérum frais comme *un élément vivant* qui, comme tel, vieillit et meurt. En effet, avec le temps on observe des modifications colloïdales et une précipitation qui s'effectuent progressivement, même en l'absence d'agents microbiens.

« En ce qui concerne le Complément ou les propriétés alexiques du sérum, on observe la disparition très rapide de ces facteurs. Or DOURIS mentionne que ces propriétés sont justement les plus intéressantes : elles se rapportent à des phénomènes digestifs, à des phénomènes de dissolution, à des phénomènes de défense de l'organisme. C'est comme si le sérum possédait encore une survie, et l'énigme de l'Alexine nous ramène toujours au phénomène même de la vie, absolument comme nous y conduit, d'autre part, l'étude des diastases. »

Il nous semble que ce témoin de la vie mériterait mieux que d'être brûlé.

Expérimentalement, PIERRET et BRETON ont constaté que chez les tuberculeux pulmonaires et cutanés, le pouvoir alexique des sérums se dégrade par vieillissement à la glacière dans les mêmes proportions que celui du sang normal, tandis que chez les tuberculeux chirurgicaux, dont la teneur en

Complément est relativement faible, ce même pouvoir alexique est exalté de façon considérable après séjour prolongé du sérum à la glacière (50 % environ après 8 jours de glacière).

En 1934 et 1935, A. et R. Sartory, J. Meyer et Mme Sauter ont effectué des recherches dans le même ordre d'idées, en dosant, au moyen de la méthode de Calmette-Massol, d'une part les Anticorps tuberculeux spécifiques, et d'autre part, à l'aide de la méthode de Hecht-Bauer (par retour), le taux du Complément idiogène du sérum expérimenté.

Ils ont ainsi pu constater que le sang tuberculeux prélevé au moyen de vénules de Behring contient des complexes de Complément, composés de facteurs labiles et non spécifiques pour l'antigène-sensibilisatrice tuberculeux, et de facteurs stabiles, spécifiques pour le complexe antigène-sensibilisatrice tuberculeux.

Il est évident que le résultat de ces constatations dans la pratique de la sérologie a une grande importance. Nous nous sommes donc proposé de reprendre ces recherches en les appliquant à la Tuberculose et à la Blennorrhagie, et surtout de leur donner une tournure pratique qui permette de les utiliser dans le laboratoire.

Prélèvement du sang

Il se fait par ponction à la veine. Dans la pratique courante le médecin se sert généralement d'une aiguille ou d'un trocart stérilisés pour faire écouler le sang de la veine du pli du coude dans une éprouvette stérilisée également. Un autre procédé consiste à faire un prélèvement de sang, dans les mêmes conditions, à l'aide d'une aiguille montée sur seringue à piston stérilisées. Il faudra par la suite transvaser le sang dans une éprouvette stérilisée, destinée au laboratoire d'analyse. Ces deux procédés, simples et peu coûteux il est vrai, ont été remplacés les dernières années par le procédé de prélèvement au moyen de *la Vénule* de Behring, dont le seul inconvénient est encore son prix commercial élevé.

Le sang à analyser doit être prélevé le matin à jeun, dans des conditions de stérilité absolue. On évite ainsi la formation

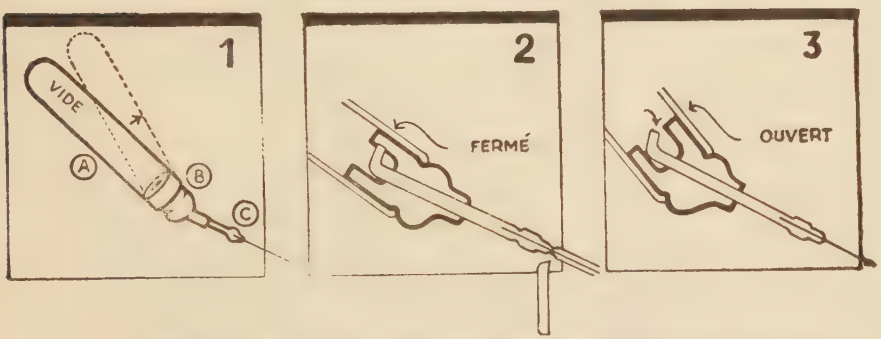
d'un sérum chyleux très gênant dans la réaction de HECHT, puisqu'il masque l'hémolyse et conduit à de faux résultats. D'autre part, la réaction du verre a une influence sur l'action des ferments de défense, et il est important d'effectuer toutes les manipulations dans un verre neutre (verre de Iéna).

Toutes ces conditions sont réalisées par *la Vénule de* BEHRING, dont nous empruntons la description à la monographie de l'Igépharma.

La technique de prélèvement du sang est considérablement simplifiée par l'emploi de la vénule. Celle-ci permet de prélever du sang sans nulle difficulté ni perte de temps.

La vénule est la combinaison d'un récipient dans lequel on a fait le vide destiné à recevoir le liquide prélevé, et d'une aiguille stérilisée protégée par une gaine de verre. L'avantage de cet instrument consiste dans son maniement aisé et surtout dans ce fait que le liquide à examiner ne peut entrer en contact ni avec l'air, ni avec aucun agent suspect entre le moment où il fait issue hors de l'organisme et celui où il pénètre dans le récipient.

Description de la vénule.

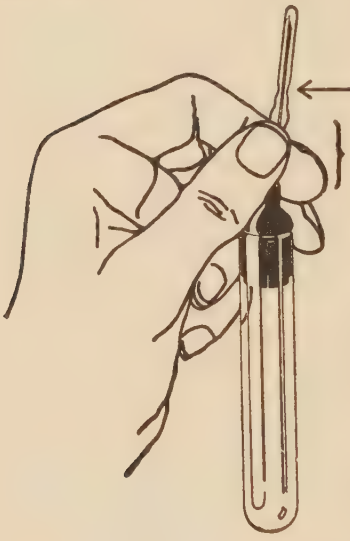


1. Dans le tube à essai A, fermé par un bouchon de caoutchouc B, on a fait le vide; le bouchon de caoutchouc B contient le dispositif d'écoulement dans lequel l'aiguille à injection C a été fixée. La gaine de verre protégeant l'aiguille sera enlevée par section à l'aide d'une lime. En soulevant le récipient A, après avoir fait la piqûre, on ouvre le dispositif d'écoulement par où le sang fait irruption dans le tube à essai.

2. Une coupe à travers le bouchon de caoutchouc montre le fonctionnement du dispositif d'écoulement. Le tube coudé appuie fortement sur la paroi caoutchoutée du bouchon. L'instrument est ainsi parfaitement fermé.

3. Le tube coudé est maintenu éloigné par pression latérale de la paroi caoutchoutée; son orifice est libre et le sang s'écoule. Aucune pression ne doit être exercée entre le récipient et l'aiguille avant la piqûre, car elle risquerait d'ouvrir le dispositif d'écoulement et de diminuer le vide.

Fig. A

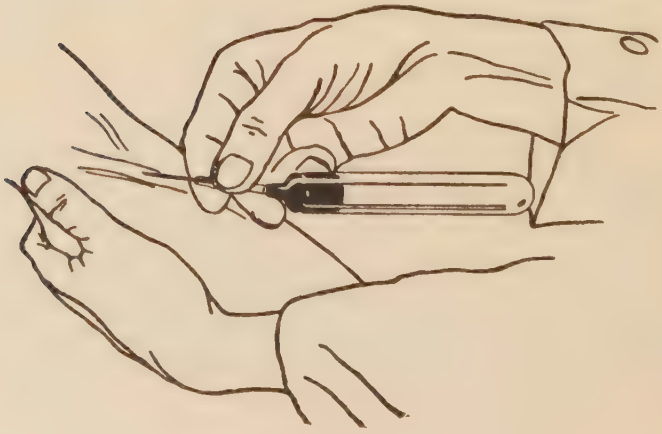


Technique de la section de la gaine de verre de l'aiguille.

Point où doit porter la section.

La Vénule doit être maintenue ici lors de la section de la gaine et pendant la piqûre. (Sinon il pourrait se produire lors des manœuvres une coudure de l'ajustage permettant la pénétration d'air dans l'instrument et diminuant le pouvoir d'aspiration de la Vénule.)

Fig. B Technique de la piqûre :



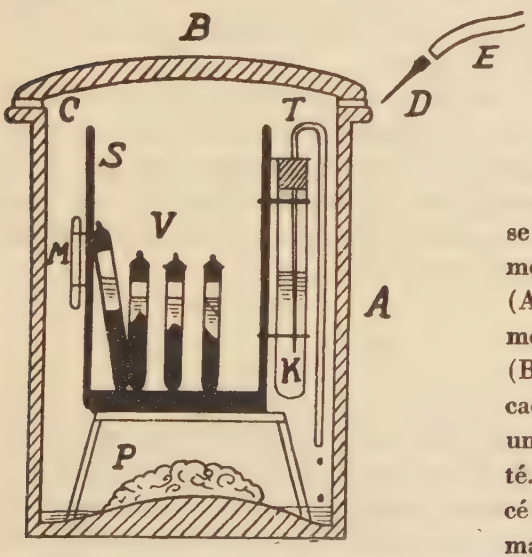
Lorsque le récipient est plein, on retire l'aiguille de la veine : le récipient se ferme automatiquement. Pour éviter les dangers de piqûres avec des aiguilles infectées, on coupe le tube porte-aiguille.

Les avantages de la vénule de BEHRING sont évidents :

1) Aiguille et tube récepteur toujours prêts et stérilisés.
2) Opération rapide, où la seringue à piston est remplacée par une aspiration au vide.
3) Conservation du sang dans le vide.
4) L'aiguille, toujours très fine, a en outre l'avantage de causer des blessures insignifiantes et le prélèvement peut être assez facilement pratiqué par un personnel de laboratoire, en dehors du médecin.

Nous avons ainsi prélevé le sang stérilement. En principe le bouchon de caoutchouc ferme le tube d'une façon parfaitement étanche. Pour plus de sûreté cependant nous placerons les vénules de sang dans un récipient à vide à la glacière.

Conservation des vénules dans le vide à la glacière.



L'appareil à vide se compose essentiellement d'un verre Weck (A) fermé hermétiquement par un couvercle (B). Un anneau en caoutchouc (C) assure une parfaite étanchéité. Un support (S) placé à l'intérieur du verre maintient les vénules (V) en position verticale dans un vide très poussé. Un mano-

mètre à mercure (M) permet à tout instant d'en mesurer le degré. A ce support est fixée une éprouvette fermée par un bouchon en caoutchouc et que traverse un tube en verre (T) courbé. L'extrémité inférieure du tube se termine à quelque 2 à 3 cm au-dessus du fond du verre. L'éprouvette renferme *une solution alcoolique de potasse* de formule :

K O H ..... 10 gr.
Alcool 90° ..... 100 cc.

Au fond du verre (A) on dispose environ 10 gr. *d'acide pyrogallique* (pyrogallol) C^6H^3 (O H)^3. (P)

Le vide se fait d'abord à l'aide d'une aiguille hypodermique (D) de modèle courant, reliée à une trompe à vide à l'aide d'un tube en caoutchouc (E). Dès que l'atmosphère intérieure du verre Weck accuse une pression inférieure à celle surmontant la solution de potasse — ce qui se produit rapidement — la solution de potasse s'écoule goutte à goutte par le tube (T) au fond du verre. Peu à peu elle imbibe l'acide pyrogallique. *L'oxygène est donc absorbé.* On maintient l'aiguille jusqu'à ce que le manomètre accuse un vide presque parfait. A ce moment on la retire vivement de l'anneau de caoutchouc, qui continue à assurer le vide dans le verre Weck. Si par la suite une petite quantité d'air, pratiquement d'oxygène, venait à y pénétrer, elle serait absorbée par le pyrogallol.

Cette méthode permet donc de placer rapidement les vénules de sang dans le vide pratiquement parfait et de les y maintenir pendant quelques jours; nos expériences ont duré quelquefois jusqu'à six jours. Il suffit alors de placer le verre Weck dans la glacière pour assurer au sérum sanguin une bonne conservation en présence du caillot.

***

Au début de nos expériences, nous avons fait quelques essais sur le Complément de cobaye, en vérifiant sa conservation dans le vide. Le sang de cobaye, coagulé et centrifugé, fournissait un sérum clair, que nous avons versé dans un tube à hémolyse. Nous l'avons placé dans notre appareil à vide, à la glacière.

A cette époque notre glacière présentait encore l'inconvénient des trépidations que lui imprimait le moteur fixé à sa partie supérieure. Au bout de trois jours déjà, le sérum de cobaye avait perdu sa limpidité, présentait différentes couches de couleur et densité différentes et n'avait plus aucun pouvoir complémentaire. Par l'agitation et l'absence du caillot de sang notre Complément fut détruit, ce que nous avons déjà signalé dans le chapitre précédent au sujet du Complément en général. En outre, le sérum conservé en présence du caillot présentait souvent une couleur rouge provenant d'hématies hémolysées par l'agitation dans la glacière. *Il importe donc de placer les vénules dans un milieu au repos parfait.*

***

En résumé, voici la marche des opérations qui devaient nous mener aux réactions de déviation : le sang prélevé à l'aide des vénules de Behring est placé dans l'appareil à vide Weck, à la glacière pendant six jours. Au bout de ce temps nous avons soustrait les vénules au vide, décanté le sérum une première fois et centrifugé pour le débarrasser des hématies qui auraient pu passer à la décantation. Le sérum ainsi préparé nous servait à deux réactions, menées simultanément :

1. *La réaction de* Calmette-Massol au sérum inactivé.
2. *La réaction de* Hecht-Bauer au sérum non inactivé.

***

Nous avons dit au début de ce chapitre que nos expériences avaient été faites avec du sang blennorrhagique et du sang tuberculeux. Nous aurons donc à examiner parallèlement les deux sortes de sang, la technique étant la même dans l'un et l'autre cas.

Réaction de Calmette-Massol.

a) *Sang blennorrhagique*

Les réactifs nécessaires sont :
- Antigène
- Sérum de malade inactivé
- Complément de cobaye
- Globules de mouton
- Ambocepteur anti-mouton

Antigène : Au début de nos expériences nous nous sommes servi d'un antigène que nous avons préparé et titré nous-même selon la technique de RUBINSTEIN.

Préparation de l'Antigène : Les gonocoques provenant d'une culture de vingt - quatre heures sont mis en suspension dans l'eau physiologique, en tubes scellés et chauffés pendant une heure à + 60°. Ils présentent par la suite deux activités antigéniques : 1) la phase solide = reliquat des corps microbiens, et 2) la phase liquide = autolysat, celui-ci plus actif que le premier, le mélange des deux plus actif que chacun pris isolément.

Les gonocoques étant isolés (gélose ascite ou gélose au sang) on les repique sur gélose ascite. Vingt-quatre heures après, quelle que soit leur abondance, on enlève l'eau de condensation. On verse dans chaque tube de gélose inclinée 5 à 10 cc d'eau distillée stérile. Il ne faut pas racler la surface de la gélose. Tout au plus est-il permis d'étaler prudemment les colonies avec une boucle de verre. Les gonocoques, mis en suspension dans l'eau, sont décantés avec une pipette-boule dans un ballon à col haut (en verre neutre) muni de perles de verre, le tout stérilisé. On remplit le ballon au tiers avec les eaux contenant les souches de gonocoques; on le soumet à des agitations fréquentes le premier jour et on continue ainsi pendant une huitaine. Le ballon est conservé à la glacière.

Pour ne pas obtenir une préparation par trop antialexique, il est bon de ramener la richesse microbienne initiale à un milliard de germes environ par cc. Les gonocoques subissent la lyse; pour servir d'antigène, la préparation est isotonisée au moyen d'une solution concentrée et stérile d'eau salée (par exemple 0,9 gr. de NaCl dans une petite quantité d'eau distillée pour 100 cc de la préparation Antigène). L'Antigène est réparti en ampoules de verre neutre que l'on scelle.

Titrage de l'Antigène : La base du titrage consiste à trouver la dilution qui, à la dose déterminée, par exemple 0,3 cc, laisse intacte l'unité alexique établie. La préparation (un milliard de germes par cc) sera essayée à l'état pur, aux doses de 0,3 cc, 0,2 cc, 0,1 cc et de 0,3 cc de dilutions 1 : 5, 1 : 7,5, 1 : 10.

Certains autolysats antigéniques très actifs supportent une dilution de 1 : 5, même 1 : 7,5 pour que, en même temps, le pouvoir antialexique des doses deux fois plus fortes soit sûrement éliminé.

Ces doses sont mises en contact pendant une heure avec des doses croissantes d'Alexine 1/20 et additionnées au bout de ce temps de globules de mouton, suivant le tableau ci-dessous :

TABLEAU II

Antigène à titrer ..	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Complément 1/20 .	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3
Sérum physiologique	1,1	1,05	1,0	0,95	0,9

1 heure à l'étuve à + 37°

puis dans chaque tube trois gouttes de globules de mouton à 5 %

On choisira pour chaque préparation à l'étuve la moitié de la dose commençant à entraver l'activité hémolytique de l'Alexine. La dilution trouvée servira, pour toute la préparation, comme point de repère pour les titrages quotidiens avec l'Alexine du jour, le pouvoir antialexique d'un Antigène devant être rapporté à l'unité alexique, cette dernière déterminant la dose optima pour la séroréaction.

Au cours de nos analyses nous avons trouvé, pour notre Antigène ainsi préparé, qu'il fallait l'employer à la dilution de 1/10 et à raison de 0,2 cc par tube à hémolyse.

Par la suite nous avons essayé un autre antigène sous la forme d'*une émulsion antigonococcique* à 4 milliards de germes par cc. Il nous a donné pleine satisfaction et son emploi dans la séroréaction de la Blennorrhagie est tout indiqué.

On sait que tout Antigène présente un pouvoir antialexique propre, qu'il importe de déterminer une fois pour toutes. Sa constance pour un échantilon donné dispense de la même opération avant chaque réaction. Nous avons préparé deux dilutions d'Antigène dans la solution physiologique à 8,5 gr. NaCl par litre :

Antigène à un milliard de germes par cc
Antigène à 10.000.000 de germes par cc

La détermination du pouvoir antialexique se fait suivant le tableau ci-dessous :

TABLEAU III

Tubes n°	1	2	3	4	5	6	7	8
Antigène	Dilution à 1 milliard				Dilution à 10.000.000			
Antigène cc	—	1,0	0,5	0,25	1,0	0,5	0,25	0,1
Complément 1/20	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Sérum physiol. .	1,0	—	0,5	0,75	—	0,5	0,75	0,9

Bien mélanger, placer à l'étuve + 37° 1 heure, puis

Globules de mouton	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Ambocepteur 1/4000	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

Bien mélanger, placer à l'étuve + 37° 30 minutes

Le tube N° 1 sert de contrôle dans le titrage de l'Ambocepteur par rapport au Complément. Le temps de séjour à l'étuve étant écoulé, on notera les tubes où l'hémolyse ne s'est pas produite. On détermine ainsi la dose de l'Antigène limite devenant antialexique pour notre Complément, et on emploiera dans la réaction définitive la demi-dose.

Citons comme exemple le résultat obtenu dans une des analyses : l'hémolyse commence à se produire dans le tube N° 6; elle est complète dans le tube N° 7. Nous emploierons donc l'Antigène gonococcique à la dilution de 10.000.000 de germes par cc et à raison de 0,2 cc par tube à hémolyse.

Sérum de malade : Après répartition dans les tubes à hémolyse à raison de 0,2 cc par tube, nous avons inactivé le sérum au B. M. à + 50° pendant 3/4 d'heure. La théorie indique en général + 56° pendant 1/2 heure. En expérimentant sur nos sérums âgés de 6 à 10 jours nous avons plusieurs fois constaté que cette température voisinait avec la température de coagu-

lation des Albuminoïdes du sérum (d'où grande perte de sérum) et qu'il était certainement préférable de chauffer à température plus basse, un temps plus long. Nous avons ainsi un sérum âgé de six jours, privé du Complément humain.

Complément de cobaye : Le sang de cobaye prélevé par ponction cardiaque ou par ouverture de la veine du cou, centrifugé, fournit un sérum dont le pouvoir complémentaire est, pour la pratique courante, à peu près constant. Si les moyens du laboratoire le permettent, on a avantage à prendre un Complément moyen de 3 cobayes sains. Pour savoir à quelle dilution et dose employer le Complément, on le titre par rapport au sérum hémolytique ou ambocepteur. On fera 3 dilutions de Complément : 1 : 5, 1 : 10, 1 : 20, et 3 dilutions d'ambocepteur 1 : 1000, 1 : 2000, 1 : 4000, et l'on opère suivant le tableau ci-dessous :

TABLEAU IV

	Série I			Série II			Série III		
	Dilution de Complément								
	1/10			1/5			1/20		
	Dilution de l'Ambocepteur								
	1/1000	1/2000	1/4000	1/1000	1/2000	1/4000	1/1000	1/2000	1/4000
Ambocepteur cc	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Globules de mouton 5% cc	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Complément cc	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

L'hémolyse limite a lieu en général avec un Complément 1/20 et une dilution d'ambocepteur 1/4000. Comme nous prélevons le sang de cobaye le matin et que nos réactions s'échelonnent sur toute la journée, nous préférons employer le Complément à la dilution de 1/10 dans du sérum physiologique.

Globules de mouton : Nous avons employé l'émulsion de globules de mouton à 5 %, préparée comme nous l'avons indiqué au chapitre II à propos de la réaction de HECHT-BAUER.

Ambocepteur anti-mouton : Nous avons employé l'ambocepteur anti-mouton MERCK, qu'on trouve couramment dans le commerce. Son titre de dilution est indiqué : 1/4000. Nous l'avons vérifié en mesurant le pouvoir hémolytique du Complément.

Il va sans dire que, pour de nombreuses réactions, le prix commercial élevé du produit incite un laboratoire à préparer lui-même le sérum anti-mouton en préparant un lapin ou un chien avec des globules de mouton : le sang de mouton est recueilli stérilement et défibriné par des perles de verre : on filtre sur de la gaze stérile et on le lave plusieurs fois avec de l'eau physiologique pour le débarrasser des albumines extra-globulaires et éviter ainsi les accidents d'anaphylaxie. On lave ensuite un volume déterminé de sang en le centrifugeant et en remplaçant le sérum par de l'eau physiologique, à 3 reprises. On injecte ensuite dans la veine marginale de l'oreille d'un lapin 4, 3, 2, 1 cc de globules purs, en injections de 7 en 7 jours. Le prélèvement du sang se fait 4 à 7 jours après la dernière injection, en saignant l'animal par ponction de la carotide.

Le sang recueilli stérilement est mis à coaguler, le sérum recueilli est inactivé 1/2 heure à + 56°, titré provisoirement et mis en ampoules.

*
**

La réaction de CALMETTE-MASSOL, modification de BORDET-GENGOU-WASSERMANN, permet de doser la quantité de Sensibilisatrice spécifique par rapport au Complément de cobaye titré. Elle nous sert en outre de vérification de spécificité de la réaction de HECHT-BAUER, que nous pratiquerons par la suite.

Technique :

A. Une première série de trois tubes qui reçoivent chacun une dose fixe d'Antigène.

B. Une deuxième série de 3 tubes dont chacun reçoit 0,2 cc de sérum à anti-corps à étudier.

C. Une troisième série de 5 tubes au moins. Chacun reçoit la dose d'Antigène de la série A plus la dose de sérum à anti-corps 0,2 cc de la série B.

Dans chacun des tubes des trois séries on ajoute des doses

d'alexine allant en croissant de tube en tube, en prenant pour dose initiale la dose minima active, c'est-à-dire celle qui permet l'hémolyse du complexe hématies + sérum hémolytique inactivé. On complète au volume de 2,5 cc avec du sérum physiologique à 8,5 gr. NaCl $^{0}/_{00}$. Le support contenant ainsi les trois séries de tubes est porté à l'étuve à + 37° pendant 1 heure, puis on ajoute dans chaque tube 0,5 cc de l'émulsion de globules de mouton lavés et ensuite une quantité de sérum hémolytique anti-mouton représentant 2 fois la dose minima hémolytique.

On reporte à l'étuve à + 37° pendant 1/2 heure. On lit alors les résultats.

La réaction de fixation est positive (pas d'hémolyse), donc démontrant la présence d'anticorps, si l'alexine déviée par le mélange Antigène + sérum à étudier (série C) est supérieure aux volumes d'Alexine déviés respectivement par l'Antigène et par l'Anticorps (séries A et B).

Si un volume V de sérum dévie N doses minima d'Alexine, le rapport $\frac{N}{V}$ représente le nombre de doses minima d'Alexine que peut dévier 1 cc de sérum anti. Soit, par exemple, un sérum fixant 3 doses minima. Le rapport $\frac{N}{V} = \frac{3}{0,5} = 6$ représente le nombre de doses minima d'Alexine fixées par cc de sérum.

Les divers sérums titrés avec un même Antigène et un même système hémolytique peuvent ainsi être comparés entre eux d'après le nombre d'unités d'Alexine qu'ils dévient.

Le tableau ci-dessous résume la technique : TABLEAU V

	Tubes	Ex. *	Sérum chauffé	Antigène Go 10.000.000	Alexine 1/10	NaCL 8,5 °/oo	Globules de mouton	Ambo-cepteur 1/4000
	1	H —	0,2	0,2	0,1	1,0	0,5	0,5
C	2	H —	0,2	0,2	0,2	0,9	0,5	0,5
	3	H —	0,2	0,2	0,3	0,8	0,5	0,5
	4	H —	0,2	0,2	0,4	0,7	0,5	0,5
	5	H +	0,2	0,2	0,5	0,6	0,5	0,5
	S 1	H +	0,2		0,1	1,2	0,5	0,5
B	S 2	H +	0,2		0,2	1,1	0,5	0,5
	S 3	H +	0,2		0,3	1,0	0,5	0,5
	A 1	H +		0,2	0,1	1,2	0,5	0,5
A	A 2	H +		0,2	0,2	1,1	0,5	0,5
	A 3	H +		0,2	0,3	1,0	0,5	0,5

Exemple : *) H — = hémolyse négative
H + = hémolyse positive

En considérant 0,1 cc de Complément 1/10 comme unité, nous pouvons dire, dans le cas de notre exemple, que le mélange sérum + Antigène a dévié 4 doses minima d'Alexine et que le rapport N/V est égal à $N/V = \frac{4}{0,2} = 20$.

Nos expériences ont porté sur 30 sangs gonococciques analysés dans ces conditions. Nous résumerons les résultats obtenus en même temps que les résultats de la réaction de Hecht-Bauer des mêmes sérums. La comparaison des deux résultats juxtaposés doit nous mener à des conclusions intéressantes.

B. *Sang tuberculeux.* *
**

Les réactifs nécessaires sont les mêmes que précédemment, à l'Antigène près bien entendu.

Nous avons utilisé l'*Antigène Méthylique* Boquet-Nègre. Au chapitre II nous avons signalé l'action nuisible de l'alcool sur le Complément. Aussi lorsqu'on utilise l'Antigène méthylique faut-il évaporer l'alcool par un séjour de 12 heures environ à l'étuve à + 37° et reprendre le résidu en l'émulsionnant bien dans la solution physiologique.

Le titrage du pouvoir antialexique de l'Antigène se fait avec deux dilutions : 1/10 et 1/20, suivant le tableau ci-dessous :

TABLEAU VI

Tubes n°	1	2	3	4	5	6	7	8
Antigène	Dilution 1/10				Dilution 1/20			
Antigène cc	—	1,0	0,8	0,6	1,0	0,8	0,6	0,4
Complément 1/10 cc	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Sérum phys.	1,0	—	0,2	0,4	—	0,2	0,4	0,6
Bien mélanger, placer à l'étuve + 37° 1 heure, puis								
Globules de mouton	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Ambocepteur ...	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Bien mélanger, placer à l'étuve + 38 1/2 heure								

Citons comme exemple le résultat obtenu au cours d'une des analyses : l'hémolyse commence à se produire dans le tube N° 5. Nous emploierons donc l'Antigène tuberculeux à la dilution de 1/20 et à raison de 0,5 cc par tube à hémolyse.

La technique de CALMETTE-MASSOL appliquée à la tuberculose a été pratiquée comme dans le cas du sang blennorrhagique, conformément au tableau ci-dessous :

TABLEAU VII

Tubes	Sérum chauffé	Antigène T B 1/20	Alexine 1/10	NaCL 8,5 °/oo	Globules de mouton	Ambocepteur 1/4000
1	0,2	0,5	0,1	0,7	0,5	0,5
2	0,2	0,5	0,2	0,6	0,5	0,5
3	0,2	0,5	0,3	0,5	0,5	0,5
4	0,2	0,5	0,4	0,4	0,5	0,5
5	0,2	0,5	0,5	0,3	0,5	0,5
S 1	0,2		0,1	1,2	0,5	0,5
S 2	0,2		0,2	1,1	0,5	0,5
S 3	0,2		0,3	1,0	0,5	0,5
A 1		0,5	0,1	0,9	0,5	0,5
A 2		0,5	0,2	0,8	0,5	0,5
A 3		0,5	0,3	0,7	0,5	0,5

Comme dans le cas du sang blennorrhagique, nous résumerons les résultats de 30 sangs tuberculeux analysés, dans un tableau qui groupera parallèlement les résultats de la réaction de Calmette-Massol et de Hecht-Bauer.

***

En résumé, la réaction de Calmette-Massol pratiquée sur le sérum de malade conservé dans le vide à la glacière nous a permis :

1) De constater la présence ou l'absence d'Anticorps spécifique pour les Antigènes purs et spécifiques.
2) De doser la quantité de Sensibilisatrice spécifique en fonction d'une quantité de Complément hétérogène, frais et titré.

Réaction de Hecht-Bauer.

Elle constitue le vrai but de nos recherches, puisqu'elle doit nous prouver la conservation du Complément humain dans les conditions expérimentales précédemment exposées.

Nous ne reviendrons plus sur la question de la technique exposée déjà au chapitre II et considérons nos expériences comme menées au point où nous pouvons dire d'un sérum s'il présente ou non des Anticorps spécifiques. Nous savons donc si la réaction de déviation peut être considérée comme positive, douteuse ou négative.

Supposons, pour simplifier la question, que nous avons affaire à un sérum à Anticorps spécifiques, marqué de +++, donc à une hémolyse négative. Le tube à hémolyse présente donc l'aspect trouble des émulsions de globules de mouton non hémolysés.

Dans la réaction de Calmette-Massol nous avons détruit le Complément humain et entièrement remplacé par du Complément de cobaye frais. Dans la réaction de Hecht nous avons utilisé le Complément humain, du moins la partie conservée d'après notre méthode. Ce Complément est en plus ou moins grande quantité, tout comme la Sensibilisatrice. Dans le cas

cité plus haut, cette quantité X de Complément humain est petite, puisque immédiatement et en entier absorbée par l'Antigène-Anticorps, d'où l'absence d'hémolyse après la deuxième addition de globules de mouton. Il est donc logique d'admettre qu'une addition ultérieure — dosage par retour — de Complément de cobaye par petites fractions dosées finira par déterminer l'hémolyse. Pour un même sérum, la quantité de Sensibilisatrice est la même dans la réaction de CALMETTE-MASSOL et dans la réaction de HECHT. La première nous a fait connaître la quantité de Complément de cobaye qui correspond à la quantité de Sensibilisatrice spécifique; la deuxième, après addition de Complément de cobaye titré, nous indiquera la quantité de Complément humain plus Complément de cobaye nécessaire à l'hémolyse dans le cas de sérum frais. Par différence des deux nous connaîtrons la quantité de Complément humain idiogène.

En pratique nous avons donc ajouté aux différents sangs positifs soumis à la réaction de HECHT, du Complément de cobaye au 1/20 à la dose progressive de 0,05 à 0,1 cc jusqu'à hémolyse complète. Après chaque addition nous avons placé le support à l'étuve à +37° pendant dix minutes. Au bout de ce temps nous avons fait une lecture et poursuivi la manipulation jusqu'à obtenir l'hémolyse complète dans tous les tubes.

Prenons un exemple :

Un sérum examiné à la réaction de CALMETTE-MASSOL présente un rapport N/V égal à $\frac{N}{V} = \frac{1}{0,2} = 5$. Il présente donc une quantité de Sensibilisatrice correspondant à 5 doses d'Alexine minima par cc. La réaction de HECHT est positive et l'hémolyse finale est atteinte après addition de 0,075 cc de Complément de cobaye 1/10, (en pratique 0,15 cc Complément 1/20). Si l'on considère 0,1 cc de Complément comme unité d'Alexine, la quantité totale de Complément nécessaire à l'hémolyse dans notre cas est donc :

$$\frac{X + 0,75}{0,2}$$

Ce rapport correspond, comme dans la réaction de CALMETTE-MASSOL à la quantité de Sensibilisatrice dans le sérum donné, exprimé en doses d'Alexine. Nous pouvons donc écrire :

$$\frac{X + 0{,}75}{0{,}2} = 5 \text{ d'où } X = 1 - 0{,}75 = 0{,}25$$

La quantité de Complément humain idiogène, présente dans le sérum, correspond à 0,25 doses d'Alexine minima par cc.

*
**

En résumé, nous avons donc calculé pour chaque sérum le rapport N/V dans la réaction de CALMETTE-MASSOL et le rapport $\frac{X + N'}{V'}$ dans la réaction de HECHT. L'égalité de ces deux rapports nous a permis de calculer X. La comparaison de X et du rapport N/V nous mènera à des conclusions que nous exposerons par la suite.

*
**

Les deux tableaux des pages 64 à 67 résument nos expériences, l'un pour le sang blennorrhagique, l'autre pour le sang tuberculeux.

TABLEAU VIII

SANG BLENNORRHAGIQUE

Sang	CALMETTE-MASSOL			HECHT-BAUER			Compl. idiogène	Rapport	Observations cliniques
N°	N	V	$\frac{N}{V}$	N'	V'	$\frac{X+N'}{V'}$	X	$\frac{\frac{N}{V}}{X}$	
1	1,0	0,2	5,0	0,9	0,2	5,0	0,1	50,0	cas aigu
2	1,5	0,2	7,5	0,9	0,2	5,0	0,6	12,5	cas chronique
3	—	0,2	—	—	0,2	—	—	—	sérum chyleux, impossible à examiner
4	1,5	0,2	7,5	1,0	0,2	7,5	0,5	15,0	cas aigu
5	2,0	0,2	10,0	1,0	0,2	10,0	1,0	10,0	cas chronique
6	—	0,2	—	1,5	0,2	—	—	—	CALMETTE-MASSOL : négatif HECHT-BAUER : + +
7	2,5	0,2	12,5	0,75	0,2	12,5	1,75	7,1	cas chronique
8	1,0	0,2	5,0	1,0	0,2	5,0	—		cas grave : sérum sans Complément
9	3,5	0,2	17,5	1,75	0,2	17,5	1,75	10,0	cas chronique
10	3,0	0,2	15,0	1,75	0,2	15,0	1,25	12,0	cas chronique
11	1,0	0,2	5,0	0,75	0,2	5,0	0,25	20,0	cas aigu
12	1,5	0,2	7,5	0,5	0,2	7,5	1,0	10,0	cas chronique
13	2,0	0,2	10,0	1,25	0,2	10,0	0,75	13,3	cas évolutif de début
14	—	0,2	—	1,0	0,2	—	—	—	CALMETTE-MASSOL : négatif HECHT-BAUER : +
15	2,5	0,2	12,5	0,5	0,2	12,5	2,0	6,25	cas chronique

Sang	Calmette-Massol			Hecht-Bauer			Compl. idiogène	Rapport	Observations cliniques
N°	N	V	$\frac{N}{V}$	N'	V'	$\frac{X+N'}{V'}$	X	$\frac{\frac{N}{V}}{X}$	
16	2,0	0,2	10,0	1,75	0,2	10,0	0,25	40,0	cas aigu
17	1,5	0,2	7,5	0,9	0,2	7,5	0,6	12,5	cas chronique
18	3,0	0,2	15,0	1,6	0,2	15,0	1,4	5,3	cas chronique
19	4,0	0,2	20,0	3,0	0,2	20,0	1,0	20,0	cas aigu
20	—	0,2	—	1,5	0,2	—		—	malade guéri ?
21	1,0	0,2	5,0	0,70	0,2	5,0	0,3	16,6	cas aigu
22	4,0	0,2	20,0	3,25	0,2	20,0	0,75	26,6	cas aigu de début
23	3,5	0,2	17,5	1,75	0,2	17,5	1,75	10,0	cas chronique
24	—	0,2	—	—	0,2	—	—	—	réaction négative
25	1,0	0,2	5,0	0,25	0,2	5,0	0,75	6,6	cas ancien
26	1,5	0,2	7,5	0,8	0,2	7,5	1,3	5,7	cas chronique ?
27	4,5	0,2	22,5	2,0	0,2	22,5	2,5	9,0	cas aigu
28	3,0	0,2	15,0	1,75	0,2	15,0	1,25	12,0	cas chronique
29	2,0	0,2	10,0	1,0	0,2	10,0	1,0	10,0	cas chronique
30	3,5	0,2	17,5	3,0	0,2	17,5	0,5	35,0	cas aigu de début

TABLEAU IX

SANG TUBERCULEUX

Sang	Calmette-Massol			Hecht-Bauer			Compl. idiogène	Rapport	Observations cliniques
N°	N	V	$\frac{N}{V}$	N'	V'	$\frac{X+N'}{V'}$	X	$\frac{\frac{N}{V}}{X}$	
1	4,5	0,2	22,5	1,25	0,2	22,5	3,25	6,9	cas favorable
2	5,0	0,2	25,0	4,0	0,2	25,0	1,0	25,0	pronostic défavorable
3	4,0	0,2	20,0	3,8	0,2	20,0	0,2	100,0	cas désespéré
4	1,0	0,2	5,0	0,5	0,2	5,0	0,5	10,0	cas peu favorable
5	4,0	0,2	20,0	1,5	0,2	20,0	2,5	8,0	évolution favorable
6	—	0,2	—	1,25	0,2	—	—	—	Calmette-Massol : négatif Hecht-Bauer : + +
7	2,5	0,2	12,5	1,25	0,2	12,5	1,25	10,0	cas peu favorable
8	1,0	0,2	5,0	0,5	0,2	5,0	0,5	10,0	cas favorable
9	1,0	0,2	5,0	0,75	0,2	5,0	0,25	20,0	pronostic peu favorable
10	4,0	0,2	20,0	3,0	0,2	20,0	1,0	20,0	cas évolutif
11	1,0	0,2	—	—	0,2	—	—	—	sérum anticomplémentaire au Hecht
12	—	0,2	—	—	0,2	—	—	—	réaction négative
13	1,5	0,2	7,5	1,25	0,2	7,5	0,25	30,0	évolution assez rapide
14	1,5	0,2	7,5	0,75	0,2	7,5	0,75	10,0	cas ancien
15	4,0	0,2	20,0	3,0	0,2	20,0	1,0	20,0	évolution peu favorable

Sang	Calmette-Massol			Hecht-Bauer			Compl. idiogène	Rapport	Observations cliniques
N°	N	V	$\frac{N}{V}$	N'	V'	$\frac{X+N'}{V'}$	X	$\frac{\frac{N}{V}}{X}$	
16	4,0	0,2	20,0	3,3	0,2	20,0	0,7	28,5	cas grave
17	3,0	0,2	15,0	1,4	0,2	15,0	1,6	9,3	cas favorable
18	—	0,2	—	1,3	0,2	—	—	—	Calmette-Massol : négatif Hecht-Bauer : + +
19	1,5	0,2	7,5	1,31	0,2	7,5	0,2	37,5	évolution très rapide
20	1,0	0,2	5,0	0,5	0,2	5,0	0,5	10,0	cas stationnaire plutôt favorable
21	1,5	0,2	7,5	0,6	0,2	7,5	0,9	8,3	cas ancien
22	1,0	0,2	5,0	0,6	0,2	5,0	0,4	12,5	cas évolutif
23	4,0	0,2	20,0	3,1	0,2	20,0	0,9	22,2	cas grave
24	—	0,2	—	1,1	0,2	—	—	—	Calmette-Massol : négatif Hecht-Bauer : +
25	1,0	0,2	5,0	0,75	0,2	5,0	0,25	20,0	évolution, pronostic peu favorable
26	—	0,2	—	1,5	0,2	—	—	—	Calmette-Massol : négatif Hecht-Bauer : + + +
27	4,5	0,2	22,5	1,0	0,2	22,5	3,5	6,4	cas favorable
28	3,0	0,2	15,0	1,75	0,2	15,0	1,25	12,0	cas évolutif grave ?
29	1,0	0,2	5,0	0,7	0,2	5,0	0,3	16,6	évolution assez rapide
30	2,5	0,2	12,5	1,0	0,2	12,5	1,5	8,3	cas ancien, en guérison

Contrôle du Complément à l'état frais et à l'état stabilisé

Nous pouvons donc retenir de la réaction de déviation au sérum non inactivé, conservé dans le vide à la glacière pendant 6 jours, ce premier point :

Le facteur Complément subsiste dans son activité.

Mais alors nous nous sommes posé la question de savoir si effectivement il subsiste en totalité, c'est-à-dire en quantité égale à celle qu'il manifeste dans le sang immédiatement après son prélèvement. Cette question s'impose, en effet, puisque nous connaissons la labilité du Complément et sa disparition plus ou moins rapide du sérum conservé dans les conditions habituelles de laboratoire. Il suffisait donc de doser le Complément dans le sérum frais quelques heures après le prélèvement du sang, et de refaire le même dosage 6 jours après en ayant soin de placer la Vénule dans l'appareil Weck, à la glacière.

Nous avons fait nos essais sur 6 sangs tuberculeux, cliniquement positifs. Après coagulation du sang dans la Vénule, nous avons prélevé du sérum la quantité nécessaire à nos réactions, que nous avons immédiatement effectuées. Le reste du sérum en présence du caillot de sang a été aussitôt replacé dans le vide à la glacière. Au bout de 6 jours, nous avons effectué à nouveau les réactions, conformément à notre technique courante. Les résultats obtenus sont groupés dans le tableau suivant :

TABLEAU X

	Sérum frais, examiné le jour du prélèvement		Sérum âgé de 6 jours conservé dans le vide à la glacière		Cliniques Observations
Sang	Hecht-Bauer	N'	Hecht-Bauer	N'	
1. K. E.	± + + +	1,4	− + + +	6,5	TB pulmonaire aigüe
2. R. B.	+ + + +	3,7	− + + +	4,8	TB pulmonaire aigüe
3. G. M.	− + + +	2,4	− + + +	2,7	TB osseuse amélioration
4. J. K.	− − + +	1,2	− + + +	1,0	TB osseuse chronique
5. A. P.	− − + +	1,2	− + + +	2,0	TB osseuse amélioration
6. H. J.	± + + +	1,8	− + + +	7,6	TB pulmonaire aigüe

Avant de formuler nos conclusions à la suite de ces six analyses, nous tenons à faire remarquer que leur petit nombre ne nous permet pas d'affirmer d'une façon absolue toutes nos idées. Une longue série d'analyses seule mènerait à des conclusions certaines. Nous voudrions cependant indiquer ici les observations qui s'en dégagent, dans l'espoir qu'un travail ultérieur en vérifiera le bien-fondé.

Nous avons constaté que la réaction de HECHT-BAUER, instable avec un sérum frais examiné peu de temps après son prélèvement, devient stable avec le sérum âgé, conservé dans le vide à la glacière. En général la réaction devient plus nettement positive et peut être affirmée avec plus de certitude.

Dans tous les cas examinés il y a diminution de la quantité de Complément par vieillissement : le Complément se compose sans doute d'une partie labile et d'une partie stabile.

Cette diminution semble forte pour les sérums de Tuberculose pulmonaire aiguë (sangs N° 1, 2, 6). Il paraît y avoir stabilisation du Complément dans les cas de Tuberculose osseuse en voie d'amélioration et de Tuberculose osseuse chronique (sangs N° 3, 5 et 4).

Interprétation des résulats

Les lettres N, V, N', V' et X surmontant les colonnes des 3 tableaux expriment les grandeurs des différents réactifs qui entrent en jeu dans les réactions de CALMETTE-MASSOL et de HECHT-BAUER, conformément à l'explication de la page 61.

Le rapport N/V et X représentent les quantités de Sensibilisatrice spécifique et de Complément humain idiogène, exprimées en unités d'Alexine de cobaye titrée par cc.

Il ressort de nos expériences que le rapport :

$$\frac{N}{V \cdot X} = \frac{\text{Sensibilisatrice spécifique}}{\text{Complément idiogène}}$$

et le facteur X (Complément stable) doivent être envisagés dans

l'interprétation de la réaction de l'organisme vis-à-vis des différents agents infectieux.

Un rapport élevé $\frac{N}{V \cdot X}$ et un taux de Complément stable relativement faible semblent exister dans les cas aigus et de début d'une maladie infectieuse. Les valeurs de $\frac{N}{V \cdot X}$ très faibles et de Complément plus élevé semblent caractéristiques pour une évolution chronique ou une stabilisation de l'état infectieux.

Si le rapport entre $\frac{N}{V \cdot X}$ et X tend vers l'unité il semble, au moins pour la Tuberculose pulmonaire, exister un pronostic favorable pour l'évolution de la maladie; plus ce rapport évolue vers l'infini, plus l'évolution de l'infection tuberculeuse semble défavorable et désespérée.

Le manque de Complément stable dénote un état grave, l'organisme étant incapable de produire cet élément de défense que semble être ce facteur lié à la Sensibilisatrice spécifique.

Il serait intéressant d'avoir des observations cliniques plus complètes et de suivre la maladie en pratiquant un sérodiagnostic à intervalles réguliers. Un laboratoire d'hôpital est, dans ce cas, particulièrement favorisé. Comme les autres réactifs (Antigène, Ambocepteur, Complément de cobaye) sont pratiquement invariables en grandeur, il sera facile de dresser un tableau de valeurs correspondant aux différents stades de la maladie.

CHAPITRE CINQUIÈME

CONCLUSIONS

Notre travail a porté principalement sur les deux points suivants :

A. Conservation du Complément humain,

B. Dosage du Complément humain,

dans les sérums pathologiques de Blennorrhagie et de Tuberculose.

A. — 1) Nous avons constaté que le sang prélevé sur un sujet à jeun au moyen d'une vénule de BEHRING, placée dans le vide, au repos parfait et à la glacière pendant 6 à 10 jours, fournit un sérum clair et limpide qui possède encore un pouvoir alexique très net, comme le prouve la possibilité de pratiquer une réaction de déviation au sérum non inactivé (réaction de HECHT-BAUER).

2) La quantité de Complément dosée dans le sérum immédiatement après prélèvement du sang est supérieure à celle renfermée dans un sérum âgé et conservé dans les conditions expérimentales de notre technique. Il y a donc disparition d'une partie de la fonction alexique. Le Complément peut sans doute être considéré comme un complexe de Compléments composé de :

un facteur labile et non spécifique,

un facteur stabile et spécifique pour l'Antigène.

Le facteur labile serait détruit au bout de peu de temps, le facteur stabile, au contraire, pourrait être conservé pendant un temps très grand si on s'en tient aux conditions de conservation

indiquées plus haut : stérilité, sérum au contact du coagulum, repos, vide et basse température.

3) Pratiquées parallèlement avec le sérum conservé dans le vide à la glacière, les deux réactions de CALMETTE-MASSOL et de HECHT-BAUER présentent une différence de sensibilité et de spécificité très nette. Nous avons à plusieurs reprises pu observer une réaction négative CALMETTE-MASSOL, alors que la réaction de HECHT était positive, parfois même marquée + +. Nous savons que la réaction au sérum frais pratiquée dans les conditions habituelles présente plus de réactions positives que la méthode au sérum chauffé et qu'il faut attribuer une partie des résultats positifs à des réactions secondaires faussant l'interprétation. Il faut donc envisager deux possibilités de réaction :

a) Réaction de CALMETTE-MASSOL et réaction de HECHT-BAUER *négatives :* le facteur labile du Complément est inhibiteur de la réaction.

b) Réaction de CALMETTE-MASSOL *négative*, mais réaction de HECHT-BAUER au sérum frais, âgé, *positive.*

Notre mode opératoire supprime le facteur inhibiteur pour les sangs rentrant dans le premier groupe.

Mais ce qui est intéressant, c'est les constatations pour les sangs du deuxième groupe. Nous avons en effet obtenu des réactions spécifiques HECHT-BAUER là où la réaction de CALMETTE-MASSOL est négative. Il ne peut pas s'agir ici de réactions non spécifiques dues à des phénomènes secondaires troublant l'équilibre colloïdal, parce que nos résultats positifs concordent avec les diagnostics cliniques. Nous avons donc obtenu à l'aide de notre technique une sensibilité supérieure à celle réalisable par les méthodes au sérum inactivé.

Le fait ne peut s'expliquer que par une fixation plus prononcée et plus spécifique du Complément stable idiogène sur des Sensibilisatrices spécifiques, non décelables par la technique de BORDET-WASSERMANN.

4) Nous avons signalé au chapitre IV l'inconvénient qu'il y avait à chauffer le sérum âgé à + 56° pendant 1/2 heure. La destruction du facteur labile du Complément — autrement dit changement dans la structure colloïdale des Protéides du

sérum — a certainement abaissé la température de coagulation des composants du sérum, ce qui plaiderait bien en faveur de l'opinion qui attribue au Complément non pas un caractère de substance, mais d'état colloïdal particulier des Protéides sériques.

B. — 1) Au cours de nos expériences, nous avons pratiqué un dosage de Sensibilisatrice spécifique et de Complément idiogène, les deux valeurs exprimées en fonction d'un Complément de cobaye titré. Jusqu'à présent on considérait toujours la Sensibilisatrice spécifique seule comme indicatrice de diagnostic d'infection microbienne, sa présence en plus ou moins grande quantité devant indiquer un état maladif plus ou moins grave. Or nous croyons avoir constaté que la quantité de Complément idiogène relative à la quantité de Sensibilisatrice spécifique dans un même sérum est, pour la Blennorrhagie et la Tuberculose, un indicateur de la gravité et du stade de l'infection. Une faible quantité de Complément accompagnant une quantité nettement supérieure de Sensibilisatrice traduit un stade aigu ou évolutif. Une grande quantité de Complément indique une évolution favorable ou un état maladif ancien (maladie chronique). L'absence de Complément interprète un état grave, l'organisme étant incapable de produire cet élément de défense que semble être le Complément.

2) Il serait peut-être même possible, au moyen de notre technique, de comparer les quantités respectives de Sensibilisatrices et de Complément d'une maladie à une autre et d'en tirer une conclusion sur la réaction de l'organisme vis-à-vis de différents microbes. Nous savons déjà que l'injection de tuberculine entraîne toujours une atténuation marquée du pouvoir alexique, alors que la typhoïde, la dysenterie, la diphtérie — toutes maladies où le traitement sérique réussit particulièrement bien — restent sans influence notable sur la teneur et la qualité du Complément.

Vu :
Strasbourg, le 19 janvier 1938
Le Président du Jury,
A. SARTORY

Vu et approuvé :
Strasbourg, le 20 janvier 1938
Le Doyen
de la Faculté de Pharmacie,
A. SARTORY

Vu et permis d'imprimer :
Strasbourg, le 24 janvier 1938
Le Recteur de l'Académie,
Président du Conseil de l'Université,
J. DRESCH

BIBLIOGRAPHIE

ARRHENIUS (S.). — La chimie physique dans ses rapports avec la sérothérapie (traduction Mouton) dans *Bull. Inst. Pasteur*, A. 11, 1904, pages 553 à 565.

AUGUSTE (Ch.). — Sur le pouvoir anticomplémentaire du sérum humain, *C. R. Soc. Biol.* T. II/116, p. 770, 1934.

: *Bulletin de l'Académie de Médecine*, 30 octobre 1934.

: *Annales Institut Pasteur*, T. 26, 1936, pp. 17 et 737.

BAUER (R.). — Zur Kenntnis der Zustandsänderungen des Blutskomplements. *Zeitschr. für Im. Forsch.*, 1929, Bd. 61, p. 309.

BELFANTI et CARBONE. — Produzione di sostanza Tossiche nel siero di animali inoculati con sangue eterogeneo. *Giornale della R. Acad. di Torino*, N° 8, 1898.

BERGERON (A.) et LETULLE (R.). — Valeur de la réaction de la fixation du Complément dans le diagnostic précoce de la Tuberculose. *Revue de la Tuberculose*, 1920, N° 4, p. 246.

BESSEMANS (A.). — De l'importance respective des deux constituants de l'Alexine dans le phénomène de l'hémolyse. *Zeitschr. für Im. Forsch.*, I Orig. 17, p. 36.

BESSEMANS (A.). — Contribution à l'étude de diverses Alexines. *Zeitschr. für Im. Forsch.*, I Orig. Bd. 1913.

BEZANÇON et BERGERON. — *Revue de la Tuberculose*, 1920, N° 6.

BOQUET et NÈGRE. — Recherches sur la valeur antigène des émulsions bacillaires et des extraits éthyliques et méthyliques des bacilles tuberculeux. *Ann. Inst. Pasteur*, T. XXXV, 1921, p. 300.

BOQUET et NÈGRE. — *C. R. Soc. Biol.*, 1920, pp. 900 et 922.

BOQUET et NÈGRE. — *Presse Médicale*, N° 79, 3. X. 1925.

Bordet et Gengou. — Sur l'existence de substances sensibilisatrices dans la plupart des sérums antimicrobiens. *Ann. Inst. Pasteur*, mai 1901, p. 289.

Bordet (J.). — Sur le mode d'action des sérums cytolytiques et sur l'unité de l'Alexine dans un même sérum. *Ann. Inst. Pasteur*, 1901, Vol. 15, p. 303.

Bordet (J.). — Agglutination et dissolution des globules rouges par le sérum. *Ann. Inst. Pasteur*, 1899, p. 273.

Bordet (J.). — Les sérums hémolytiques, leurs antitoxines. *Ann. Inst. Pasteur*, T. XIV, 1900, p. 257.

Browning et Makie. — Studies on complement action; with special reference to the fractioning of complement by incans of ammonium sulphate. *Zeitschr. für Im. Forsch.*, 1914, Bd. 21, p. 422.

Bruck (C.). — Immunität bei Gonokokken-Infectionen. *Handbuch für pathog. Mikroorganismen*, Bd. IV, p. 759.

Calmette (A.) et Massol (L.). — Contributions à l'étude de la réaction de fixation de Bordet-Gengou au cours de l'infection et de l'immunisation tuberculeuse. *Ann. Inst. Pasteur*, T. XXVIII, 1914, p. 338.

Calmette, Nègre et Boquet. — *Manuel de la technique de Microbiologie et Sérologie*, p. 249.

Cesari (E.). — Etude sur la fonction antigénique des lipoïdes. *Ann. Inst. Pasteur*, T. XLIV, mai 1930, p. 534.

Cordier (P.). — Sérologie de la Tuberculose. Etude comparative des différentes réactions actuellement employées. *Thèse*, Strasbourg, juillet 1937.

Courmont. — La destruction du Complément par l'agitation. *C. R. Soc. Biol.*, 1912, T. 72, p. 916.

Demanche (R.). — Les récents perfectionnements des réactions de floculation de la syphilis. *Presse médicale*, 5 avril 1933, p. 540.

Demanche (R.). — *Précis de technique de la syphilis.* Paris-Doin, 1936.

Demanche (R.). — La fonction antigénique des lipoïdes, et les notions nouvelles sur le mécanisme des réactions sérologiques de la syphilis. *Presse Médicale*, N° 57, 18 juillet 1931, p. 1077.

Deissler (K.). — Zur Kenntnis der sogenannten Komponenten des Komplements. *Zeitschr. für Im. Forsch.*, T. LXXIII, 1932, p. 365.

Ehrlich (P.) et Morgenroth (J.). — *Berl. Klin. Woch.*, N° 1, 1899.

Ferrata. — *Berl. Klin. Wochenschrift*, N° 13, 1907.

Hahn (M.). — Natürliche Immunität (Resistenz. *Handbuch für pathogene Mikroorganismen*, 1929 - 1930, p. 663.

Hyde (R. R.). — The Complementing properties of blood plasma. *Am. J. of hyg.*, 1928, Vol. 8, p. 859.

Jacoby (M. et M.). — Über die Abhängigkeit der Komplementzerstörung von der Anwesenheit des Sauerstoffes. *Biochem-Zeitschrift*, 1915, Bd. 69, p. 127.

Kahn (R.-L.). — *La réaction de Kahn, guide pratique.* Baltimore, 1928.

Kreyenbühl (W.). — Contribution à l'étude de la constitution protido-lipidique des bactéries acido-alcoolo-résistantes. *Thèse*, Strasbourg, juin 1937.

Knorr (M.). — Bactericide und bacteriolytische Stoffe des Blutes. *Handbuch für pathog. Mikroorganismen*, Bd. II, p. 663.

Landsteiner (K.) et Simms (S.). — Production of heterogenetic antibodies with mixture of the binding part of the antigen and protein. *Journ. Of. exp. méd.*, T. XXXVIII, août 1923, p. 127, et *Bull. Inst. Pasteur*, T. XXI, 1923, p. 771.

Lecomte du Nouy (P.). — Tension superficielle du sérum. Relations entre la chute en fonction du temps et des anticorps. *C. R. Soc. Biol.*, T. LXXXIX, 1923, p. 1146.

Lecomte du Nouy (P.). — Tension superficielle du sérum. Chute de la tension superficielle due à l'addition de certaines substances et action antagoniste du sérum. *C. R. Soc. Biol.*, 1923, T. LXXXIX, p. 1148.

Lecomte du Nouy (P.). — La sérologie à la lumière des données nouvelles sur les propriétés physico-chimiques des sérums. Ann. des Maladies vénériennes, 28e année, N° 3, mars 1933, p. 195.

Massol (L.) et Grysez (V.). — Sur la variation du pouvoir alexique du sérum frais de cobaye. *C. R. Soc. Biol.*, T. LXVIII, p. 588, 9 avril 1910.

Massol (L.) et Grysez (V.). — Influence du vieillissement et de la dessiccation sur la conservation de l'Alexine du sérum de cobaye. *C. R. Soc. Biol.*, 14 mai 1910, p. 825.

Metchnikoff (E.). — Les cytotoxines. *Revue générale des Sciences*, 1901.

Nattan Larrier, Grimard et Dufour. — Vieillissement et pouvoir anticomplémentaire. *C. R. Soc. Biol.*, 8 mai 1937.

Newler (A. J.). — Active Forschungsmethode bei Serodiagnostik der Gonorrhoe. *Zeitschr. für Im. Forsch.*, T. LXXVII, p. 56, 1932.

Pierret et Breton. — Variation du pouvoir alexique des sérums de lapins gardés à la glacière. *C. R. Soc. Biol.*, 14 décembre 1925 (II), p. 1613.

Ritz (H.) et Sachs (H.). — Über Komplementinactivierung durch Bacterien. *Zeitschr. für Im. Forsch.*, 1918, Bd. 26, p. 483.

Rubinstein (M.). — Emploi des sérums non chauffés pour le sérodiagnostic de la syphilis. Technique. *C. R. Soc. Biol.*, 20 janvier 1917.

Rubinstein (M.). — *Traité pratique de Sérologie et de Sérodiagnose.* Maloine. Paris, 1932.

Sachs (H.). — Experimentelle specifische Diagnostik mittels Agglutination, Bactericide (Lyse) und Komplementbindung. *Handbuch für pathog. Mikroorganismen*, 1930, p. 203.

Sachs (H.). — Hämolytische Serumwirkung (Hämolysine) und Komplementbindung. *Handbuch für pathog. Mikroorganismen*, Bd. II, 1929/1930, p. 777.

Sachs (H.), Klopstock (A.) et Weil (A. J.). — *Deutsch. Med. Woch.*, N° 15 et 25, 1925.

Sartory (A.) et Lutt (A.). — Méthode de dosage du Complément humain stable et importance de ce facteur dans l'évolution de maladies infectieuses (Tuberculose et Blennorrhagie). *Bull. de l'Académie de Médecine*, janv. 1938.

SARTORY (A. et R.), MEYER (J.) et Mme SAUTER. — Application de la méthode de Hecht au diagnostic de la Tuberculose (importance du facteur Complément). *Bull. de l'A. F. A. S.*, Nantes, 1935.

SARTORY (A. et R.), MEYER (J.). — Mutation du bacille tuberculeux sous l'influence du milieu tuberculino-sulfo-gaïacolé. *Revue pratique des Maladies des pays chauds*, T. XIV, N° 10, oct. 1934.

SILBER (L. A.) et SCHAFRAN (A. S.). — Weitere Untersuchungen über die Thermostabilität und Natur des Komplementes. *Zeitschr. für Im. Forsch.*, T. LXXVII, 1932, p. 514.

SCHREIBER (J.). — Etude comparée de la réaction de Bo-Wa par les méthodes au sérum chauffé et au sérum frais et la technique de fixation à froid. *Thrèse*, Strasbourg, 1926.

SCHUBERT (J.). — Komplementspaltung und Komplementwirkung. *Zentralblatt für Bact. und Parasitenkunde*, I. Orig. 122, 1931, p. 82.

URBAIN (A.). — La réaction de fixation appliquée au diagnostic de certaines maladies microbiennes et parasitaires communes à l'homme et aux animaux. *Thèse*, Alfort, 1927.

URBAIN (A.). — *La réaction de fixation dans la Tuberculose*. Masson. Paris, 1925.

WIDAL (F.) et LE SOURD (L.). — Les Sensibilisatrices dans le sérum des tuberculeux. *Soc. Médic. des Hôpitaux*. Séance du 5 juillet 1901, p. 787.

TABLE DES MATIÈRES

Introduction 9

Plan 11

CHAPITRE PREMIER :

Réaction de fixation de Complément 13
Historique de la Réaction de Bo-Wa 18
Fonction Antigène 22
Fonction Anticorps 25

CHAPITRE DEUXIÈME :

Réaction de HECHT-BAUER 28

CHAPITRE TROISIÈME :

Le Complément 34

CHAPITRE QUATRIÈME :

Prélèvement du sang 46
Conservation des Vénules dans le vide à la glacière .. 49
Réaction de CALMETTE-MASSOL 51
Réaction de HECHT-BAUER 60
Contrôle du Complément à l'état frais et à l'état stabilisé 68
Interprétation des résultats 69

CHAPITRE CINQUIÈME :

Conclusions 71

Bibliographie 75